Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON **W. RUHLAND** UND **H. WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZURICH
H. v. GUTTENBERG-ROSTOCK, **R. HARDER**-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN
W. RUHLAND-UNTERDEUFSTETTEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

L. BRAUNER
MÜNCHEN

E. BÜNNING
TÜBINGEN

53. BAND, 4. HEFT
MIT 24 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 6. JULI 1959)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1959

Planta (Berl.)

Preis DM 21.—

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E.) Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland*, *L. Brauner* und *E. Bünning*

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophotographien u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität, oder an

Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 83 03 01

und

Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 2790 1

---

53. Band **Inhaltsverzeichnis** 4. Heft

Seite

Seybold, A., und H. Falk, Die Heidelberger Chlorophyllbestimmungen — eine Überprüfung. Mit 4 Textabbildungen 339

Hagen-Seyfferth, M., Zur Kenntnis der Geißeln und der Chemotaxis von Chlamydomonas eugametos moewus (Chl. moewusii Gerloff). Mit 4 Textabbildungen 376

Jacobi, G., Über den Zusammenhang von Glykolsäure und lichtabhängiger Phosphorylierung. Mit 2 Textabbildungen 402

Guttenberg, H. v., Über die Perzeption des phototropen Reizes 412

Kausch, W., und H. Ehrig, Beziehungen zwischen Transpiration und Wurzelwerk. Mit 14 Textabbildungen 434

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta 53, 339—375 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Heidelberg

DIE HEIDELBERGER CHLOROPHYLLBESTIMMUNGEN — EINE ÜBERPRÜFUNG

Von

A. SEYBOLD und H. FALK

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 23. Februar 1959)

I. Einleitung

Gewisse Probleme der Farbstoffphysiologie lassen sich nur mit quantitativen Daten behandeln. WILLSTÄTTER und STOLL (1913 und 1918) haben vor mehr als 40 Jahren eine brauchbare Methode quantitativer Chlorophyllbestimmungen der beiden Komponenten a und b entwickelt. Ihren Vorgängern wie SORBY, TSWETT, JACOBSEN und MARCHLEWSKY war die quantitative Bestimmung noch nicht ganz gelungen, so daß man mit Recht lange Zeit auf die Analysendaten von WILLSTÄTTER und STOLL zurückgriff. Ihre Formulierung (1913, S. 116): „Es hat sich also gezeigt, daß die Zusammensetzung des Chlorophylls aus seinen beiden Komponenten bei verschiedenen Pflanzen und verschiedenen Wachstumsbedingungen einer und derselben Pflanze annähernd konstant, aber nicht genau konstant ist. Auf 1 Molekül Chlorophyll b treffen ungefähr 3 Mole Chlorophyll a", wird bis heute noch in den meisten Lehr- und Handbüchern als gültig angesehen, obwohl sich aus den 1918 mitgeteilten Daten entnehmen läßt, daß von einer annähernden Konstanz nicht durchwegs gesprochen werden kann. Zu dieser Frage konnten wir seit 1938 mehrere Beiträge liefern. JACOBSEN und MARCHLEWSKY (1912) vermuteten bereits einen Zusammenhang zwischen dem Quotienten Chlorophyll a : b und den herrschenden Umweltbedingungen und TSWETT (1906, 1907), dessen chromatographische Methode sich in den letzten zwei Jahrzehnten besonders fruchtbar auswirkte, hat von keinem konstanten Verhältnis der Chlorophyllkomponenten gesprochen, vielmehr schätzte er an Hand seiner Chromatogramme das Verhältnis Chl. a : b = 4(—6) : 1 (TSWETT 1907, S. 396).

Seit 1932 versuchten wir in Heidelberg die chromatographische Methode TSWETTs den quantitativen Chlorophyllbestimmungen für physiologische Fragen dienlich zu machen, die nach einigen Fehlschlägen sich so ausbauen ließ, daß wir selbst einige besondere Fragen bearbeiten und anderen Kollegen die speziellen Verfahren zur Verfügung stellen konnten. Es ist nicht notwendig, hier die gesicherten Ergebnisse aufzuzählen und die bisher in der Literatur vorliegenden Daten erschöpfend einer Kritik

zu unterziehen, vielmehr geht es hier darum, festzustellen, ob die wiederholt verbesserten Verfahren eine Revision unserer selbst ermittelten Werte notwendig machen und wir unsere bisherigen Auffassungen ändern müssen.

Relative Chlorophyllbestimmungen, die in zahlreichen Arbeiten bis zum heutigen Tag in der Literatur erscheinen, haben naturgemäß nur begrenzten Wert. Daß viele Forscher sich mit relativen Angaben begnügten, liegt meist einfach daran, daß es keine leichte Sache ist, quantitative Bestimmungen durchzuführen. Die Eichung der erforderlichen Meßinstrumente (Photometer, Colorimeter usw.) setzt einwandfreie Substanzen der beiden Chlorophyllkomponenten voraus, die erst in letzter Zeit im Handel zu haben sind. Daß diese strengen Anforderungen nicht immer ganz genügen, wird uns noch später beschäftigen (s. S. 371). Wir selbst bemühen uns seit vielen Jahren immer „bessere Präparate" selbst zu gewinnen, was durchaus nicht so einfach ist, wie manche Kollegen meinen. Aus diesem Grund konnten wir auch mehrfache Wünsche, von unseren Präparaten jeweils „einige Gramm" abzugeben, nicht erfüllen, weil wir solche Mengen nie hatten und künftig wohl auch nicht haben werden. Hier sei schon darauf hingewiesen, daß wir auch weiterhin gern bereit sind, die Meßinstrumente, die der eine oder andere Forscher verwendet, zu eichen, aber immer mit dem Vorbehalt, daß mit der Vervollkommnung der Methode sich im Lauf der Zeit eine in gewissen Grenzen sich bewegende Änderung der Absolutwerte ergeben wird. Wie bei so vielen physiologischen Untersuchungen liegt auch hier der Fortschritt der Forschung in der Vervollkommnung der Bestimmungsmethode, also in der Gewinnung der „*sicheren Zahl*"!

Was wir für die quantitative Chlorophyllbestimmung gesagt haben, gilt auch für die Carotinoidbestimmung der Laubblätter. Hier kommt noch eine besondere Schwierigkeit hinzu, nämlich die, daß das, was als „Xanthophyll" der Laubblätter angegeben wird, ein Gemisch oxydierter Carotinoide ist, die bis jetzt nur teilweise chemisch definiert sind. Mit der Zeit wird es sich zeigen, daß die „vorläufigen" Xanthophyllwerte einer gewissen Korrektur bedürfen. Vielleicht trifft das auch noch bis zu einem gewissen Grad für „das Carotin" in Blättern zu. Diese Fragen sollen hier nicht diskutiert werden.

Wenden wir uns der Kritik der Chlorophyllbestimmungen zu, nicht zuletzt unserer eigenen, so müssen zunächst einige Grundfragen kurz behandelt werden.

Wenn man sich jahrelang mit einer wissenschaftlichen Streitfrage beschäftigt, sie gründlich durchdacht und sie experimentell geprüft hat und keine Widersprüche auftraten, so kommt man zu der Auffassung, daß das Problem gemäß dem Stand der verfügbaren Forschungsmethoden

eigentlich gelöst sei und Bedenken nicht mehr erhoben werden könnten. So hielten wir es seit Jahren für erwiesen, daß in ausgewachsenen Blättern keine kurzfristigen Chlorophyllschwankungen vorhanden, genauer gesagt, solche in keinem Fall exakt nachweisbar seien. Nicht nur eigene Messungen, sondern auch diejenigen anderer Forscher bestärkten uns in dieser Auffassung. Etwa gleichzeitig mit der Veröffentlichung der einschlägigen Arbeit von A. Bauer (1958) erschien eine Mitteilung von Mitrakos, Bünning und Eberhardt (1957), in der in Übereinstimmung mit Wendel (1957) im Gegensatz zu unseren Messungen kurzfristige Chlorophyllschwankungen für gesichert angesehen werden. Die Tübinger Autoren nahmen aber zu ihren Untersuchungen *Keimpflanzen*, die sich gegenüber ausgewachsenen Laubblättern hinsichtlich der Pigmentbildung anders verhalten. Darauf werden wir später eingehen (s. S. 368).

Es scheint uns an der Zeit zu sein, einige weitere Ausführungen zu der Streitfrage der kurzfristigen Chlorophyllschwankung in ausgewachsenen Blättern zu machen, da sich unrichtige Auffassungen in die Literatur und Diskussionen eingeschlichen haben und sich bereits auszubreiten beginnen[1].

Nur mit klaren Fragestellungen, eindeutigen Begriffen und kritischer Auswertung der Literatur kann eine Klärung der Probleme herbeigeführt werden.

II. Zur Frage kurzfristiger Chlorophyllschwankungen in ausgewachsenen Laubblättern

Die erste Frage, ob es kurzfristige Chlorophyllschwankungen in ausgewachsenen Blättern gibt, erheischt bereits die Klärung einiger Begriffe.

Solange ein Laubblatt nicht ausgewachsen ist, wird eine zeitliche und räumliche Änderung des Chlorophyllgehaltes zu erwarten sein. Man weiß, daß die „Ergrünung" mit zunehmendem Alter des Blattes erfolgt und ist seit langem der Meinung, daß der Chlorophyllgehalt einem Maximum zustrebt, das im allgemeinen innerhalb von Tagen und Wochen erreicht wird. Wir wollen absichtlich die heikle Frage der Bezugsgröße[2] außer acht lassen und an der plausiblen Vorstellung festhalten, daß die Chlorophyllzunahme im Blatt dadurch zustande kommt, daß ein jeder

[1] Boas (1949) hat in seinem in 3. Auflage erschienenen „Anregungsbuch": Dynamische Botanik die Chlorophyllschwankungen nach Bukatsch als einen Fortschritt gegenüber den bekannten Versuchen von Bonnier bezeichnet. „Damit (die kurzfristigen Chlorophyllschwankungen, d. Verff.) ändern sich wichtige physiologische Werte des Blattes" (Boas, S. 192). Egle (1944) hat bereits auf die kritiklose Übernahme des Befundes von Bukatsch (Boas, 2. Aufl. 1942) hingewiesen, offensichtlich ohne Erfolg. Wir befürchten, daß der Irrtum der kurzfristigen Chlorophyllschwankungen in ausgewachsenen Blättern weiterleben wird, und der Kampf dagegen ein Exempel für einen oft zitierten Spruch bildet.

[2] Wir bevorzugen bekanntlich die Blattfläche.

Chloroplast erst mit der Zeit seinen maximalen Pigmentgehalt erhält und schrittweise die Anzahl der Chloroplasten pro Zelle endgültig wird. Diese Auffassung steht mit cytologischen Befunden in Einklang. Abgesehen von absterbenden und kranken Blättern (etwa Herbstlaub) ist es uns nicht bekannt, daß ein temporärer Schwund von Chloroplasten im Laubblatt erfolgt.

Die Frage, ob man ein junges Blatt als ausgewachsen ansprechen darf oder nicht, muß von Fall zu Fall entschieden werden. Auch die Frage, ob man ein ausgewachsenes Blatt als alt bezeichnen soll oder muß, bedarf eigentlich einer Definition, weil zuweilen der Zustand „alt" offensichtlich mit Abbauerscheinungen behaftet angesehen wird. Wenn z. B. Bukatsch (1942, S. 84) schreibt: „Aus Abb. 4 dieser Tafel ist auch zu ersehen, um wieviel geringer die Pigmentschwankungen alter *ausgewachsener* Blätter, auf die sich Seybold immer bezieht, tatsächlich sind gegenüber dem jugendlichen Blatt", so meint er wohl damit, daß der Kritiker (Seybold) seine Versuche nicht mehr mit voll reaktionsfähigen Blättern durchgeführt habe. Das geht auch deutlich aus einem Brief von Bukatsch hervor (4. 12. 41): „Ich habe, mit Ausnahme von *Rumex* vom Schachen in München, nie von alten ausgewachsenen Blättern . . . gesprochen, so daß mich auch in diesem Punkt Ihre Kritik nicht trifft. Vielmehr verwendete ich stets einwandfrei grünes, nicht fleckiges oder löcheriges Material u. d. sind, wenigstens auf dem Schachen, meist jüngere Blätter. Das ‚alte' Blatt zeigt tatsächlich auch in meinem Versuch (Abb. 4) einen ziemlich ausgeglichenen Gang." Das sei gleich vorweggenommen, daß wir selbst bei allen Untersuchungen einwandfreie, nicht überalterte Blätter heranzogen. Es sei hier auch festgehalten, daß die Streitfrage nicht dadurch als erledigt angesehen werden darf, daß Bukatsch und Mitarbeiter intakte, wir hingegen überalterte, reaktionsunfähige Blätter verwendet hätten. Wenn Bukatsch, Wendel u. a. an nicht-ausgewachsenen Blättern ihre Messungen anstellten, dann ist die Fragestellung verschoben (s. S. 368). Wendel (1957) betont aber ausdrücklich, daß bei seinen Untersuchungen ausgewachsenes Blattmaterial verwendet wurde.

Wahrscheinlich wird in vielen Fällen die endgültige Ergrünung mit der morphologisch-anatomischen Differenzierung eines Blattes annähernd zusammenfallen, so daß klar definiert werden kann, wann ein Blatt ausgewachsen ist (s. auch Röbbelen 1957, S. 198).

Es gibt Fälle, wo Wachstum und Ergrünung eines Laubblattes nicht synchron verlaufen. Es sei nur an *Brownia grandiceps* u. a. Arten mit sog. Laubausschüttung erinnert. Wir konnten vor Jahren (Seybold und Egle 1938, S. 120) feststellen, daß bei unserer Gewächshauspflanze mehr als ein Monat nach der Laubausschüttung verging, ehe im ausgewachsenen Blatt eine endgültige Ergrünung erfolgte. Auch bei gewissen Aureablättern ließ sich eine Ergrünung in „Zeitlupenaufnahme" beobachten.

Abgesehen von diesen Ausnahmen ist es wahrscheinlich, daß von einem gewissen Zeitpunkt an die Anzahl der Chloroplasten einen endgültigen, konstanten Wert erlangt, ob aber eine maximale Ergrünung erreicht und beibehalten wird, ist nicht ohne weiteres zu bejahen. Zwar hat es den Anschein, daß ein ausgewachsenes, grünes Laubblatt einen charakteristischen maximalen Chlorophyllgehalt aufweist, der — wie zahlreiche Messungen ergaben — von äußeren und inneren Faktoren abhängig ist (z. B. Sonnen- und Schattenblatt). Seit langem hält man es für erwiesen, daß der Chlorophyllgehalt innerhalb größerer Zeiträume nachweisbare Veränderungen zeigt und erst seit etwa 20 Jahren wird auch von angeblich gesicherten kurzfristigen Chlorophyllschwankungen (Bukatsch, Wendel, Steuer, Sironval u. a., s. S. 348ff.) gesprochen.

Was ist unter kurzfristigen Veränderungen des Chlorophyllgehaltes zu verstehen? Diese Frage ist kurz zu beantworten: Im Laufe eines Tages, also innerhalb einiger Stunden, sollen im ausgewachsenen Blatt nachweisbare Unterschiede im Chlorophyllgehalt auftreten. Vielleicht ließen sich unter kurzfristigen Schwankungen auch noch solche verstehen, die sich auf mehrere Tage erstrecken. Bislang ist aber diese Begriffsausweitung nicht angewendet worden. Eine Konvention ließe sich leicht erzielen, wenn die Meinungen auseinandergingen.

Wenn tagesperiodische Schwankungen im Chlorophyllgehalt vorhanden wären, dann müßten den ermittelten Analysenwerten die „Stundenangaben" beigefügt werden, wie man in vielen Fällen bereits das Monatsdatum angibt. Es ist auch üblich, bei wachsenden Blättern den Pigmentgehalt in Abhängigkeit von der Zeit, dem Entwicklungszustand des Objektes, mitzuteilen. Kurzum, die „Gezeitenangaben" des wechselnden Chlorophyllspiegels in ausgewachsenen Blättern wären ein wichtiger Faktor schlechthin und bei vergleichbaren Studien des Pigmentgehaltes grundsätzlich unerläßlich. In diesem Sinn haben sich auch Mitrakos, Bünning und Eberhardt (1957) geäußert.

Schwieriger ist es, was man unter Schwankungen, Veränderlichkeit des Chlorophyllgehaltes zu verstehen hat. Soll man die genannten und ähnliche Wörter synonym gebrauchen oder ihnen eine verschiedene Bedeutung beilegen? Hier wollen wir bewußt auf eine erschöpfende Erwägung verzichten und dem Sprachgebrauch keinen Zwang antun. Vorderhand scheint es uns geboten, vermeintliche oder wirkliche Unstetigkeiten im Chlorophyllgehalt nicht rundweg als rhythmische Schwankungen auszugeben. Veränderlichkeit scheint uns der allgemeine Begriff zu sein, während von Schwankungen des Chlorophyllgehaltes nur zu sprechen wäre, wenn ein bestimmter Ausgangswert vorübergehend einem anderen Platz macht und darin eine Gesetzmäßigkeit zum Ausdruck kommt, also ein reversibler Vorgang vorliegt.

Im folgenden kürzen wir, wenn es angängig ist, *Chlorophyll*schwankungen mit CS und gegebenenfalls *Chlorophyll* mit Chl. ab.

Ungleichheiten im Analysenmaterial, also *Abweichungen* der einzelnen Probeentnahmen, sind wohl in den meisten Fällen in Kauf zu nehmen. Die statistische Sicherung gewonnener Analysendaten darf keinesfalls unterbleiben. Abweichungen können nicht als reelle Schwankungen aufgefaßt werden, wie wir später noch sehen (s. S. 362).

Ehe wir einige weitere Analysendaten über die Konstanz des Chlorophyllspiegels in ausgewachsenen Blättern mitteilen, ist eine kritische Übersicht der Literatur notwendig, da vor allem Wendel mehrere Autoren zitiert, die kurzfristige CS ermittelt haben sollen.

1. Kritische Übersicht der Literatur

Von Wendel liegen 2 Arbeiten vor, mit denen wir uns eingehender beschäftigen müssen und zwar eine Veröffentlichung von 1957 und seine Dissertation (München 1942)[1]. Da in beiden Arbeiten meistens auf die gleichen Messungen Bezug genommen wird, können wir der Kürze halber beide Publikationen zusammen kritisch behandeln.

Auf die anderen Arbeiten Wendels, die sich in der Hauptsache mit Fragen der Bestimmungsmethoden des Chlorophyllgehaltes befassen, gehen wir besonders ein (s. S. 351).

Allegiere der erste nur falsch, da schreiben ihm zwanzig
Immer den Irrtum nach, ohne den Text zu besehn.
(Goethe, *Xenien.*)

Wendel führt, wie bereits erwähnt, eine Reihe von älteren und jüngeren Literaturstellen an, die Anhaltspunkte für kurzfristige CS enthalten sollen: „Doch schon vor diesen grundlegenden Untersuchungen (von Willstätter und Stoll, Verff.) fehlte es nicht an abweichenden Ergebnissen (Wiesner 1907, Stahl 1909, Wagner 1914), welche in der Folgezeit insbesondere durch Henrici (1927), Noack (1932) und Zeller (1935) als kurzfristige und großzeitliche Pigmentveränderungen bestätigt wurden" (Wendel 1957, S. 382). „Literaturangaben zufolge konnte vor Henrici (1919, 1927, Jahreszahlen ergänzt von Verff.) nur ein Forscher, Wlodek (1921) den Thesen von Willstätter und Stoll über die Konstanz widersprechen. Wenn seine Ergebnisse keine Beachtung fanden, so besagt das, daß die Vorstellung von einer Veränderung des Chlorophylls im Blatt unter dem gewichtigen Einfluß der Arbeit von Willstätter und Stoll endgültig widerlegt schien" (Wendel 1942).

Diese Autoren, die zu Unrecht in Gegensatz zu Willstätter und Stoll gebracht werden, lassen wir im folgenden mit einigen Zitaten zu Wort kommen, damit nicht Unklarheiten bestehenbleiben.

Wiesner (1907, S. 227): „Gewöhnlich tritt, wenn das Blatt den Sättigungsgrad seines Grüns erreicht hat, dem Beobachter eine erstaunliche Konstanz des erreichten

[1] In den in der *Planta* und im *Protoplasma* vorliegenden Veröffentlichungen fehlt der Hinweis, daß es sich um Teilabschnitte der Dissertation handelt. Diese selbst ist das eine Mal (Planta **36**, 80) im Literaturverzeichnis mit München 1943, das andere Mal (Planta **37**, 611) mit München 1940 angegeben. Das uns vorliegende Dissertationsexemplar trägt das Datum Oktober 1942; mit dieser Jahresangabe ist die Dissertation auch bei Steuer (1945) zitiert.

Farbtones entgegen" — S. 228: „Die Blätter, welche einem mittleren Lichtgenuß ausgesetzt sind, behalten ihr spezifisches Grün, solange sie normal funktionieren, den ganzen Sommer hindurch und selbst länger." — (Weiter unten:) „Es wird sich zeigen, daß manche Pflanzen so organisiert sind, daß selbst im stärksten ihnen dargebotenen Sonnenlichte keine Chlorophyllzerstörung stattfindet und andere, welche selbst im tiefsten Dunkel durch längere Zeiträume hindurch keine Zerstörung des Chlorophyllfarbstoffes zulassen."

Stahl (1909, S. 81): „Bei laubwerfenden Holzgewächsen nimmt die Stärke des Grüns solange zu, als das Wachstum des Blattes anwährt. Dann tritt ein stationärer Zustand in der Sättigung des Grüns ein, welcher während der normalen Funktion des Blattes sich in der Regel konstant hält, aber auf zweierlei Weise eine Veränderung erfahren kann: entweder durch zu starke Sonnenbeleuchtung oder durch zu starke Beschattung." — S. 93: „In Übereinstimmung mit Reinke findet Pantanelli[1], daß der sehr verbreiteten Anschauung einer fortwährenden Zerstörung und Wiederbildung von Chlorophyll die experimentelle Grundlage durchaus fehlt. Da, wo eine nachweisbare, durch konzentriertes Sonnenlicht veranlaßte Zerstörung eingetreten ist, stellt sich nach ihm niemals wieder Neubildung ein; es erfolgt vielmehr früher oder später der Tod."

In seiner Dissertation geht Wendel näher auf die Abhandlung von Stahl ein und schreibt (S. 1): Es beobachteten „Wiesner (1907) und Stahl (1909) z. B. Änderungen der Chlorophyllmenge während der Wachstumsperiode und Stahl vermutete, daß die mittels einer Farbskala beobachteten Änderungen und Abstufungen der Farbintensität sogar *im Laufe eines Tages* (von uns hervorgehoben) durch eine Veränderung des Chlorophyllgehaltes selbst bedingt seien". Das soll nach Wendel auf S. 79 der Stahlschen Abhandlung zu lesen sein. Das ist aber unrichtig. Kurzfristige Farbveränderungen vieler Blätter, auf die Stahl hinweist, beruhen auf Chloroplastenverlagerung und nicht auf Veränderungen des Chlorophyllgehaltes.

Es ist unerfindlich, aus welchem Grund Wager (1914) von Wendel bei der Streitfrage kurzfristiger CS angeführt wird. Wager[2] diskutiert in der zitierten Arbeit lediglich nach dem Stand der damaligen Kenntnisse die Frage der Funktion des Chlorophylls bei der Photosynthese; Messungen über den Chlorophyllgehalt hat der englische Forscher nicht durchgeführt. Es ist sinnlos, Wager kontra Willstätter und Stoll anzuführen.

Des öfteren wird Henrici (1919, 1927) als Entdeckerin der kurzfristigen CS angesehen, wobei allerdings meist ihre Publikation aus dem Jahr 1919 außer acht gelassen wird. Wendel erwähnt diese Arbeit in seiner Dissertation folgendermaßen (S. 2): „Auch Henrici (1918) gab der Vermutung Ausdruck, daß der Chlorophyllgehalt sogar bei derselben Pflanze beträchtlich schwankt, ‚je nachdem er am Morgen, Mittag oder Abend gemessen wird'. Während sie 1918 entgegen ihren kühnen Vermutungen keinerlei Schwankungen im Verlaufe eines Tages feststellen konnte, berichtet sie 1927 über beträchtliche Schwankungen an südafrikanischen Steppengräsern".

Wir zitieren aus der ersten Arbeit von Henrici (1919) folgende Sätze (S. 51): „Die Abhängigkeit des Chlorophyllgehaltes von den beiden Größen ist in Tabelle 1 wiedergegeben. Die auf das Frischgewicht bezogenen Werte sind die direkt ab-

[1] Pantanelli (1904, S. 188): „Denn von einer entsprechenden Wiederbildung des tatsächlich zerstörten Chlorophylls in einer so kurzen Frist, wie z. B. über Ermüdung usw. kann vernünftigerweise keine Rede sein."

[2] Wendel nennt Wager fälschlich Wagner, im Text und im Literaturverzeichnis.

gelesenen, die auf das Trockengewicht bezogenen nach (Formel) berechnet. Aus Tabelle 1 geht hervor, daß der Chlorophyllgehalt ein und derselben Pflanze aus derselben Höhenlage nahezu konstant ist, wenn er auf das Frischgewicht bezogen wird, und 2. daß der auf das Trockengewicht bezogene Chlorophyllgehalt nicht nur bei derselben Species der gleichen Höhenlage, sondern sogar bei demselben Individuum sehr stark schwankt, je nachdem er morgens oder abends gemessen wird. Bedenkt man, daß sich im Laufe des Tages die Menge der in den Blättern gespeicherten Assimilate ändert, nicht aber die Menge des Chlorophylls, wie weitere Versuche ergeben, so sind die Schwankungen der auf das Tockengewicht bezogenen Werte durchaus verständlich". — S. 128: „Schwankungen des Chlorophyllgehaltes im Laufe eines Tages konnte ich bei keiner der untersuchten Pflanzen beobachten". — S. 53: „Aus diesen Versuchsreihen geht hervor, daß sich in der Ebene (Basel) bei optimalem Licht und mittlerer Temperatur der Chlorophyllgehalt der untersuchten Sonnenpflanzen im Laufe des Tages nicht ändert. Träte eine Zersetzung des Farbstoffes ein, so würde sie durch Neubildung aufgewogen, so daß ein Gleichgewichtszustand bestände." Da uns die 1927 erschienene Arbeit von Henrici nicht zugänglich war, mußten wir uns mit Referaten begnügen. Wir zitieren hier aus den Ber. wiss. Biol. 4, 1927, S. 424: „Sogar während 24 Std ändert sich der Chlorophyllgehalt stark, fällt vom frühen Morgen bis gegen Mittag ständig und steigt wiederum während der folgenden Nacht. Das Ansteigen und Abfallen des Chlorophyllgehaltes hängt von meteorologischen Einflüssen ab; an regnerischen Tagen beträgt der Unterschied wenige Prozente, an außerordentlich heißen und sonnigen Tagen hingegen bis zu 30%".

Zeller (1935) hat bereits darauf hingewiesen, daß diese beachtlichen „täglichen Schwankungen des Chlorophyllgehaltes, die unter Umständen beobachtet sein sollen, einer Kritik nicht standhalten". Der Verdacht, daß es sich hier hauptsächlich um Schwankungen des Wassergehaltes der Untersuchungsobjekte handeln könnte, ist wohl keinesfalls von der Hand zu weisen, ja sogar naheliegend[1]. Angaben über die verwendeten Bezugsgrößen fehlen, wahrscheinlich ist das Frischgewicht verwandt worden" (Zeller, S. 76). Auch uns scheint die Vermutung berechtigt, da Henrici in ihrer ersten vorangehenden Arbeit das Frischgewicht als Bezugsgröße wählte. Kurzum, Henrici hat tägliche Schwankungen im Chlorophyllgehalt nicht nachgewiesen, so daß Wendel (1957, S. 383) also keine Bedenken zu haben braucht, daß Bukatsch nicht als Vater kurzfristiger CS angesehen werden könnte.

In seiner Dissertation weist Wendel auch noch auf eine Arbeit von Wlodek (1920/21) hin. „Literaturangaben zufolge konnte vor Henrici nur ein Forscher, Wlodek (1921), den Thesen von Willstätter und Stoll über die Konstanz widersprechen. Wenn seine Ergebnisse keine Beachtung fanden, so besagt das, daß die Vorstellung von einer Veränderung des Chlorophylls im Blatt unter dem gewich-

[1] Walter (1939) hat u. a. bei Gräsern des Bechuanalandes den Gang der täglichen Transpiration gemessen und festgestellt: „Die stündliche Transpiration der Gräser beträgt bei vollem Sonnenschein etwa das Doppelte des Frischgewichts. Der höchste gemessene Wert war das Sechsfache, aber danach trat gleich starkes Welken ein." Die Wahl des Frischgewichts als Bezugsgröße des Chlorophyllgehaltes ist hier wie in anderen Fällen ungünstig.

Steuer (1945) hält trotz aller Einwände die Chlorophyllschwankungen für reell: „Die von Henrici (1927) an südafrikanischen Steppengräsern gefundenen hohen Chlorophyllschwankungen dürfen durch die Berechnung auf das Frischgewicht zu hoch erscheinen, sind aber sicher vorhanden gewesen und nicht in ihrem ganzen Ausmaß auf eine falsch hingestellte Bezugsgröße zurückzuführen (Lundegårdh 1930, Zeller 1936)."

tigen Einfluß der Arbeit von WILLSTÄTTER und STOLL endgültig widerlegt schien." WENDEL hat offensichtlich die Arbeiten von WLODEK nicht eingesehen, sondern von ihnen nur durch eine kurze Fußnote im Lehrbuch von KOSTYTSCHEW (1926) erfahren. Dieser russische Autor teilt keine Meßergebnisse von WLODEK mit und macht auch keine Angaben über dessen Meßverfahren. WLODEK hat auf spektrophotometrischem Weg visuell die Breiten der Absorptionsbanden von Chl. a und b im Rot bei Laubblättern (*Solanum tuberosum*, *Iris germanica* u. a.) in vivo ausgemessen. Dabei wird vorausgesetzt, daß die Banden von Chl.a und b sich nicht überlagern, was aber nicht den Tatsachen entspricht. WLODEK hat in einer späteren Arbeit (1924) selbst festgestellt, daß eine partielle Überlagerung der Banden im Blatt vorliegt, was sich auch aus den zahlreichen spektrophotometrischen Angaben der Folgezeit entnehmen läßt. Messungen, wie sie WLODEK anstellte, sind für die Ermittlung von Chlorophyllmengen in vivo ungeeignet, für andere pigmentphysiologische Probleme mögen sie aber von Wert sein.

Bei Tag soll die Absorptionsbande im Rot von Chl. b, nachts diejenige von Chl.a im lebenden Blatt breiter erscheinen, was WLODEK zu der Auffassung veranlaßt, bei der Photosynthese trete eine reversible Umwandlung von Chl.a in Chl.b ein. Abgesehen davon, daß nach dem Stand unserer derzeitigen Kenntnisse eine solche Umwandlung in vivo nicht erfolgt, wird man nicht sagen können, daß die Meßergebnisse von WLODEK die Auffassungen von HENRICI antizipierten. WILLSTÄTTER und STOLL haben quantitative Chlorophyllbestimmungen durchgeführt, WLODEK dagegen nicht. Das ist der Grund, weshalb WLODEKs Befunde nicht viel beachtet wurden. Aus der vermeintlichen Variabilität des Verhältnisses der Bandenbreiten der beiden Chlorophyllkomponenten hat übrigens WLODEK selbst nicht den Schluß gezogen, daß die Absolutmenge des Chlorophylls täglich schwanke und darauf kommt es doch hier an! Wenn den quantitativen Daten, die WILLSTÄTTER und STOLL ermittelt haben, gegenüber den unsicheren Relativwerten WLODEKs im Laufe der Zeit der Vorzug gegeben wurde, kann man das niemand verargen.

Unverständlich ist es, daß auch NOACK (1932, S. 973) für die CS eingetreten sein soll, schreibt er doch in dem Artikel des Handwörterbuches: „Für eine mit der Photosynthese verbundene, dauernde Zerstörung und Wiederneubildung von Chlorophyll, die früher vermutet wurde, ist bis jetzt kein Anhaltspunkt gegeben".

ZELLER (1935) hat sich mit tagesperiodischen Schwankungen des Chlorophyllgehaltes experimentell nicht befaßt; er begnügt sich mit dem Hinweis auf HENRICI (1919), daß Schwankungen des Chlorophyllgehaltes im Laufe eines Tages bei Verwendung des Frischgewichtes als Bezugsgröße nicht gefunden werden konnten.

Wenn WENDEL MONTFORT als Kronzeugen für kurzfristige Chlorophyllschwankungen anführt, ist dies irreführend. So schreiben MONTFORT und ZÖLLNER (1942, S. 397): „Die ermittelte Wirkung des Starklichtes auf Laubblätter aus starkem diffusem Licht und von sonnigem Standort spricht völlig *gegen* die Angaben von BUKATSCH und WENDEL und bestätigt somit die Ausführungen SEYBOLDs". MONTFORT und KRESS-RICHTER (1950/51, S. 520) schreiben: „Wir legen jedoch Wert darauf zu betonen, daß diese reversiblen *wetterbedingten* Veränderungen des Chlorophyllspiegels der Sonnenblätter mit den Vorstellungen von BUKATSCH und Mitarbeitern (1939, 1940) über das angebliche Vorkommen *tagesperiodischer* Schwankungen des Chlorophyllgehaltes nichts zu tun haben."

Es sind von uns nie die Angaben von WIESNER, STAHL, MONTFORT u. a. bestritten worden, daß durch Umwelteinflüsse, besonders durch Bestrahlung, der Chlorophyllgehalt von Blättern reversibel oder irreversibel verändert werden kann.

Im Gegenteil hat z. B. Egle (1944) eine Reihe von Ergebnissen mitgeteilt, die eine deutliche Veränderung bei Bestrahlung u. dgl. erkennen lassen. Wenn Montfort „photolabile und photostabile" Pflanzentypen ermittelte, so kann man wohl auch von skotolabilen und skotostabilen Typen sprechen, was übrigens schon Wiesner in aller Deutlichkeit ausgesprochen hat, wenn er diese Terminologie auch nicht wählte (s. S. 345).

Auch die Dissertation von Zahn (1952) sucht Wendel seiner Auffassung dienlich zu machen, indem er einige Sätze aus dieser Schrift herausgreift und unklar zitiert. Zahn läßt die Frage der täglichen CS offen, obwohl er mit wenigen Ausnahmen keine solchen ermitteln konnte. „Während der Chlorophyllgehalt in den meisten Tagesversuchen nur unregelmäßigen Schwankungen innerhalb der Fehlergrenze unterlag, konnte an *Rhododendron* in einigen Fällen (3, die Verff.) ein leichter Anstieg — bis 13% des Morgenwertes — ermittelt werden." — Der folgende Satz in Zahns Dissertation: „Wie die Analysen von *Syringa* (Abb. 31) lehren, ist es durchaus möglich, daß der Pigmentgehalt an einem Tag sich meßbar ändert, am nächsten Tag jedoch kontant bleibt", bezieht sich auf das Carotin, nicht aber auf den Chlorophyllgehalt! Wendel münzt diese Angabe auf kurzfristige CS um. Wir können Zahn beipflichten, wenn er die Diskussion seiner Messungen folgendermaßen einleitet: „Im Anschluß an die Besprechungen der Tageskurven des Pigmentgehaltes erhebt sich als erstes die Frage: Besitzen die Ergebnisse Realität, oder werden sie durch unbekannte Faktoren vorgetäuscht? Gerade bei einem derartigen strittigen Problem ist es erforderlich, strengsten kritischen Maßstab an jeden Schluß zu legen. Die Beantwortung der gestellten Frage gestaltet sich dadurch besonders schwierig, daß die Analysenbefunde uneinheitlich sind und das vorliegende Material wegen der zeitraubenden Technik nicht ausreicht, um ein statistisch gesichertes Bild zu entwerfen. Es erscheint jedenfalls nicht zulässig, auf Grund einiger weniger Untersuchungen, gleichgültig, welches Ergebnis diese haben, ein allgemeines, d. h. für alle Pflanzen oder auch nur für alle Individuen einer Art gültiges Urteil zu fällen. Die zahlreichen Diskrepanzen in der Literatur berechtigen zu dieser Behauptung."

Leider hat Zahn diese seine Forderung auch nicht ausreichend erfüllt. Hätte er genügend statistisch gesicherte Messungen durchgeführt, so wäre er wohl zu dem klaren Ergebnis gekommen, daß kurzfristige CS bei ausgewachsenen Blättern nicht nachweisbar sind.

Wenn Wendel (1957) die Versuchsergebnisse, die Sironval (1952/53) an Erdbeerpflanzen gewonnen hat, als Bestätigung kurzfristiger CS ausgibt, so läßt er dabei außer acht, daß Sironval bei ausgewachsenen Blättern praktisch keine täglichen Fluktuationen im Chlorophyllgehalt feststellte. Darauf kommt es hier aber an! Sironval hat zwar bei jungen, sich entfaltenden und noch wachsenden Blättern (bis etwa 15 Tage alt) Chlorophyllschwankungen bis zu 43% (Flächenbezugnahme; mittägliches Maximum gegenüber Morgenminimum) ermittelt, aber bei Blättern, die 30 Tage und mehr alt waren, keine gesicherten Chlorophyllschwankungen mehr festgestellt. „L'amplitude de la fluctuation journalière est faible, même dans la jeunesse de la feuille. Les maxima et les minima sont peu distincts" (Kurztag). — „Aux fluctuations journalières faibles correspondent des teneurs moyennes très basses ne variant pratiquement pas dans les trente jours de nos dosages". Da die Blätter der Erdbeere nach Sironvals Angabe erst nach 50—60 Tagen absterben, wird man „30 Tage alte" Blätter nicht als überaltert ansprechen können. Wendel hebt übrigens in seiner Arbeit von 1957 ausdrücklich hervor, daß er selbst nur ausgewachsenes Blattmaterial untersuchte. Die mit jungen, wachsenden Blättern gezeitigten Befunde von Sironval können keineswegs Wendels Messungen bestätigen, im Gegenteil! A. Bauer (1958) hat bereits Be-

denken geäußert, die Ergebnisse von SIRONVAL[1] im Sinne der Bukatsch-Wendelschen CS zu werten[2].

Es sei hier noch erwähnt, daß GJUBBENET und BAZANOWA (1955) bei Blättern der Kartoffel Tagesschwankungen im Chlorophyllgehalt (bezogen auf Frisch- und Trockengewicht) feststellten. Das Maximum, das um 16 Uhr auftrat, lag gegenüber dem morgens (5—7 Uhr) liegenden Minimum um etwa 20—35% höher. Je nach den Witterungsverhältnissen treten gewisse Veränderungen im Kurvenverlauf auf. Ist es Zufall, daß nach GJUBBENET und BAZANOWA das Maximum des Chlorophyllgehaltes nachmittags auftrat? A. BAUER (1958) hat bei noch wachsenden Blättern von *Datura* dasselbe Verhalten ermittelt. Der Gedanke liegt nahe, daß GJUBBENET und BAZANOWA Blätter untersuchten, die noch nicht ausgewachsen waren. Beweisen läßt sich das allerdings nicht. Da das Frisch- und Trockengewicht und nicht die Fläche als Bezugsgröße gewählt wurden, kommt den Angaben von GJUBBENET und BAZANOWA keine große Bedeutung bei der Behandlung der Streitfrage zu.

Aus den vorstehenden Zitaten und Allegaten ist zu entnehmen, daß kurzfristige CS in ausgewachsenen Blättern nicht einwandfrei nachgewiesen werden konnten. WENDEL (1950/51, S. 604) steht also mit seiner Behauptung: „Die von SEYBOLD von Anfang an bestrittenen kurzfristigen Pigmentschwankungen sind auch von anderen Autoren beobachtet worden und nachweisbar", allein auf weiter Flur. Ehe wir die Analysenbefunde von WENDEL einer Kritik unterziehen, ist es angezeigt, noch auf andere Autoren zu verweisen, die ebenfalls keine kurzfristigen Schwankungen festgestellt haben.

Die Arbeiten von WILLSTÄTTER und STOLL (1913 und 1918), EGLE (1944), A. BAUER (1958) und die eigenen (z. B. SEYBOLD 1942) sind ausreichend bekannt oder sollten es wenigstens sein. Die Angaben von BODE (1942/43) und RÖBBELEN (1957) sind aber leicht zu übersehen, da sie unsere Streitfrage nur tangieren. Es seien folgende Stellen zitiert.

BODE (S. 287): „Eine Veränderung des Chlorophyllgehaltes der Blätter im Laufe des Tages, die BUKATSCH (1939, 1940) festgestellt hat und die schon SEYBOLD (1941) abgelehnt hat, konnte auch in diesen und vielen anderen Farbstoffanalysen der letzten Jahre, die wir zu den verschiedensten Tageszeiten durchgeführt haben, nicht bestätigt werden."

RÖBBELEN (S. 199): „Da sich in der Literatur immer wieder Angaben über tagesperiodische Schwankungen des Farbstoffgehaltes in grünen Blättern finden (HENRICI 1926, BUKATSCH 1939, WENDEL 1950, SIRONVAL 1953), wurde unser Objekt (*Arabidopsis*, d. Verff.) auch daraufhin beobachtet. Die Pflanzen standen während dieser Versuche ohne besondere Beschattung im Gewächshaus. Auch nach starker Sonneneinstrahlung konnte am Abend keine gesicherte Differenz

[1] Die von SIRONVAL angestellten hypothetischen Betrachtungen können wir übergehen; es interessieren hier nur seine Analysenbefunde.

[2] *Anmerkung bei der Korrektur:* In einer neuerdings erschienenen Abhandlung (C. r. de recherches, Liège, Nr. 18, 1957) vertritt SIRONVAL weiterhin die Auffassung daß kurzfristige CS bei der Erdbeere reell seien, wenn auch von geringem Ausmaß. Die hier angegebenen Schwankungen von 4—16% (Minimum morgens, Maximum meistens 14 Uhr) sind jedoch statistisch nicht gesichert. Uns scheinen nur die Fluktuationen des Analysenmaterials, nicht aber die des Chlorophyllgehaltes im Sinne der Streitfrage reell. Im übrigen sollen die Schwankungen bei jüngeren Blättern größer als bei älteren sein, was darauf hindeutet, daß jene noch nicht völlig ausgewachsen waren bzw. die Chlorophyllbildung noch nicht ihren Maximalwert erreicht hatte. Beweiskräftige Daten, die für kurzfristige CS in ausgewachsenen Blättern sprechen, enthält die Arbeit von SIRONVAL also auch nicht!

gegenüber den Farbstoffmengen am Morgen festgestellt werden (entsprechend den Befunden von Willstätter und Stoll 1918, Seybold 1942, Egle 1944). Lediglich nach drei aufeinanderfolgenden Sonnentagen wurde im Mittel von 5 Messungen eine deutliche Chlorophyllabnahme gegenüber beschatteten Pflanzen gefunden (Tabelle 4). Sie war auch am Morgen des 4. Tages noch nachzuweisen und also eine einfache Folge des verstärkten Abbaues der Chloroplastenpigmente im direkten Sonnenlicht."

Vor kurzem ist uns noch die polnische Arbeit von Wieckowski (1957) bekannt geworden, die zu folgenden Ergebnissen führte:

Bei den drei in der Tabelle 1 angeführten Pflanzenarten ergab sich, daß die Abweichungen im Chlorophyllgehalt bei gleichzeitiger Probeentnahme von verschiedenen Stellen der Blattflächen so groß oder größer sind als die Differenzen, die sich bei „Morgen-, Mittag- und Abendwerten" ergeben.

Tabelle 1

	Chlorophyll a				Chlorophyll b		
	Anzahl der Messungen	morgens	mittags	abends	morgens	mittags	abends
Rumex alpinus . .	12	96	100	99	95	96	100
Asarum europaeum	12	92	99	100	99	100	98
Homogyne alpina .	5	97	89	100	100	97	90

Aus den zahlreichen Bestimmungen lassen sich die Relativwerte der Tabelle 1 errechnen[1]. Dem gleich 100 gesetzten Maximalwert der Morgen-, Mittag- und Abendbestimmungen stehen Minimalwerte gegenüber, die wenig kleiner sind. Tagesperiodische Schwankungen im Sinne von Bukatsch, Wendel und Steuer hat also auch Wieckowski nicht feststellen können.

Überblicken wir die einschlägige Literatur, so können wir sagen, daß außer Bukatsch, Wendel und Steuer bisher niemand in ausgewachsenen Blättern kurzfristige Chlorophyllschwankungen nachgewiesen hat, und wenn besonders Wendel das Gegenteil behauptet, so entspricht das nicht den Tatsachen. Es ist bedauerlich, daß Wendel so wenig gewissenhaft die Literatur zur Stütze seiner Auffassung auswertet. Hätte ihm bei der Niederschrift seiner Arbeiten ein Meister über die Schultern ins Konzept geblickt, wäre wohl die Literatur nicht mit derartig falschen Allegaten belastet worden. Die Literatur, besonders auch die jüngerer Zeit, enthält keine Angaben, die uns zu der Revision unserer Auffassung, daß kurzfristige CS in ausgewachsenen Blättern nicht nachweisbar sind, zwingt.

Die eben genannten drei Autoren können für sich in Anspruch nehmen, daß sie die auf die Flächeneinheit bezogenen kurzfristigen Chlorophyllschwankungen in ausgewachsenen Blättern zum erstenmal nachgewiesen haben wollen. Es werden über kurz oder lang andere Forscher zu entscheiden haben, ob Bukatsch als Entdecker kurz-

[1] Auf die absoluten Chlorophyllgehalte, die Wieckowski ermittelte, werden wir auf S. 366 eingehen.

fristiger Chlorophyllschwankungen zu gelten hat, wenn solche mit anderen Methoden, als sie uns jetzt zur Verfügung stehen, nachweisbar sein sollten. Mit den Verfahren, die bisher angewendet wurden, sind kurzfristige Schwankungen nicht zu erbringen (s. auch S. 361). Es gibt übrigens in der Geschichte der Naturwissenschaften genügend Beispiele, daß falsche Messungen und zweifelhafte Verfahren zu richtigen Erkenntnissen führten.

Wir wollen im folgenden nochmals kurz darstellen, daß die von Bukatsch, Wendel und Steuer gewonnenen Resultate einer Kritik nicht standhalten und weitere eigene Messungen sollen zeigen, daß mit den üblichen Methoden zwar die Variabilität des Analysenmaterials, aber nicht kurzfristige CS endogener oder exogener Natur zutage treten.

2. *Kritik der von* Bukatsch, Wendel *und* Steuer *durchgeführten Messungen*

Auf kritische Bemerkungen (Seybold 1942) seiner beiden ersten Arbeiten (Bukatsch 1939, 1940) hat Bukatsch (1942) eine Stellungnahme veröffentlicht, mit der wir uns kurz befassen müssen, weil sie der Auffassung Vorschub leistet, daß auch Bukatsch und seine Mitarbeiter einwandfreie Resultate gewonnen haben müssen, führte doch eine Gegenüberstellung der Chromatographie an Zucker und Stärke zu einer guten Übereinstimmung der Chlorophyllwerte. Daß Bukatsch mit der Zeit eine fehlerfreie Chromatographie gelang, ist erfreulich. Jeder muß eben auch hier sein eigenes Lehrgeld bezahlen, auch uns ist das Adsorptionsverfahren nach Tswett nicht auf den ersten Anhieb geglückt. Wendel ist der merkwürdigen Ansicht, daß wir die Methode Strotts (1938), deren sich auch Bukatsch bediente, nicht verbessert, sondern komplizierter gestaltet hätten (Wendel 1949/50, S. 605). Für diese Behauptung ist Wendel aber den Beweis schuldig, ganz abgesehen davon, daß er im wesentlichen die Rollen vertauscht; nicht wir haben das chromatographische Verfahren von Strott übernommen, sondern umgekehrt. Freilich hat Strott das Verfahren der Chlorophyll-Carotinoid-Trennung gegenüber dem Heidelberger Modus abgewandelt, aber bestimmt nicht zum Vorteil seiner Analysen, die ohne Zweifel falsch sind (s. Seybold 1939 und Stocker 1939).

Bukatsch hält daran fest, daß auch seine früheren Messungen einwandfrei seien (Bukatsch 1942, S. 83). Wenn die Schwankungen im Chlorophyllgehalt solche Ausmaße (100—200% und mehr) hätten, wie er sie ermittelt haben will, dann wären sie ohne weiteres deutlich sichtbar. Die Berechnungen, die von mir (Seybold) 1942 mit den Werten von Bukatsch angestellt worden sind, hält er für nicht zulässig, da er selbst absolute Carotinoidwerte angegeben habe und die Verwendung anderer

Analysendaten nicht statthaft seien. Laut eigenen Angaben hat Bukatsch aber vom Xanthophyll nur Relativwerte ermittelt, der Vergleich der Chlorophyll- zu den Carotinoidmengen erfordert aber Absolutwerte. Bukatsch hat also unsere Einwände durchaus nicht entkräften können. Auffallend ist allerdings, daß Bukatsch in seiner weiteren Arbeit (1942a) die Frage der täglichen Chlorophyllschwankungen ganz übergeht. Eine briefliche diesbezügliche Anfrage (27. 2. 42) beantwortet Bukatsch mit einer Fußnote in der Arbeit (1942a, S. 81): „die hierbei untersuchten Getreidepflanzen wurden unter konstanten Bedingungen herangezogen, so daß Tagesschwankungen im Blattgrün kaum in Betracht kommen". Im Gegensatz dazu haben Wendel und Steuer den Nachweis erbracht, daß unter „konstanten" Gewächshausbedingungen sehr wohl „endogene Chlorophyllschwankungen" auftreten. Was ist nun richtig? Es ist nicht unwichtig darauf hinzuweisen — da Mitrakos, Bünning und Eberhardt (1957) darauf Bezug nehmen —, daß unter Gewächshausbedingungen, die man kaum als konstant ansprechen darf, endogene Schwankungen aufträten. Steuer (1945) hat unter konstanten Bedingungen einer Klimakammer tägliche CS gemessen, die in demselben Ausmaß auftreten wie in Freilandversuchen. Wie es kommt, daß *Ficus*-Pflanzen nach sehr langer Verdunklung und bei wochenlanger Dauerbelichtung keine nennenswerten CS zeigen, ist allerdings eine offene Frage. Sie wird von Steuer nicht ausreichend diskutiert und von Wendel ganz übergangen.

Bukatsch hat sich, soweit wir sehen können, mit der Frage der kurzfristigen CS nicht weiter befaßt, sondern die Behandlung der Streitfrage seinem Schüler Wendel überlassen, der in drei Publikationen (ohne eine vorläufige Mitteilung mitzuzählen) sich äußerte und dabei vor allem Meßergebnisse seiner Dissertation verwendet. Wir können die z. T. sehr unklaren Darstellungen nicht erschöpfend kritisieren, sondern nur auf einige wesentliche Punkte hinweisen, die einer Richtigstellung bedürfen.

Den Auftakt der Publikationen von Wendel bilden 2 Arbeiten, die gänzlich mißglückt sind[1]. In der ersten Arbeit wird einerseits die Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes bei der Colorimetrie und Photometrie bestritten und andererseits die Forderung erhoben, daß eine Trennung der beiden Chlorophyllkomponenten unerläßlich sei.

Die letztgenannte Forderung erfüllt jedoch Wendel selbst nicht. In den bisher publizierten Arbeiten wird nur die Summe der Chlorophylle (a + b) angegeben, weil er offensichtlich beide Chlorophyllkomponenten nicht trennte. Das geht klar daraus hervor, daß er in der zweiten Arbeit (Wendel 1949/50, S. 608) nur eine Eichkurve von einem Chlorophyll (a + b)-Gemisch (a : b = 3 : 1) wiedergibt. In dem methodischen Teil seiner Dissertation schreibt Wendel u. a. „4. Herauspräparation der (a + b)-*Zone* (von uns ausgezeichnet) usw.". In der späteren Mitteilung (Wendel

[1] Die Lektüre der Publikationen von Wendel ist eine Zumutung, da außer falschen und unauffindbaren Zitaten auch unverständliche Formulierungen, mißverstandene Begriffe und übersehene, sinnentstellende Druckfehler häufig sind.

1949/50, S. 605) heißt es in dem gleichen Satz „Herauspräparation der *Zonen* (von uns ausgezeichnet). Demnach sollen wohl getrennte Zonen von Chl.a und b in der Adsorptionssäule gesondert vorliegen. WENDEL hat allerdings die Trennung der beiden Chlorophyllkomponenten STEUER (1945) überlassen, er selbst begnügte sich mit der Erfassung des Gesamtchlorophylls.

Wenden wir uns nunmehr der Kritik der Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes zu, die WENDEL (1949) vorbringt: „Seit den Untersuchungen von WILLSTÄTTER und STOLL (1918) ist die Bestimmung der Chlorophyllmenge aus der Schichtdicke „S" der photometrierten Lösung nicht in Frage gestellt worden. Das Lambert-Beersche Absorptionsgesetz wurde, wenn auch nicht uneingeschränkt, zur Voraussetzung für obengenannte Bestimmung der Absolutmenge" (WENDEL 1949, S. 71)[1]. WENDEL kommt alsdann im folgenden zu der unhaltbaren Auffassung, daß das Absorptionsgesetz für Chlorophyll-Lösungen von 0—0,2%iger Konzentration keine Gültigkeit hat, weil „selbst noch unter 0,1% Chlorophyll (a + b) Konzentrationen und Extinktionen nicht in dem geforderten Verhältnis stehen" (S. 79). Wir verweisen auf die Abb. 1, die wir mit dem Pulfrich-Photometer gewonnen haben und können somit unsere Kritik an WENDELS unhaltbaren Auffassungen kurz fassen. Hätte WENDEL mit den Filtern S 61 und S 57 anstelle des Filters S 66 gemessen, dann hätte er keine Bedenken in die Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes zu setzen brauchen[2]. Neben mehreren anderen irrtümlichen Auffassungen ist es nicht notwendig, wie WENDEL meint, eine quantitative Photometrie der Chlorophylle in dem Bereich ihrer stärksten Absorptionsbande

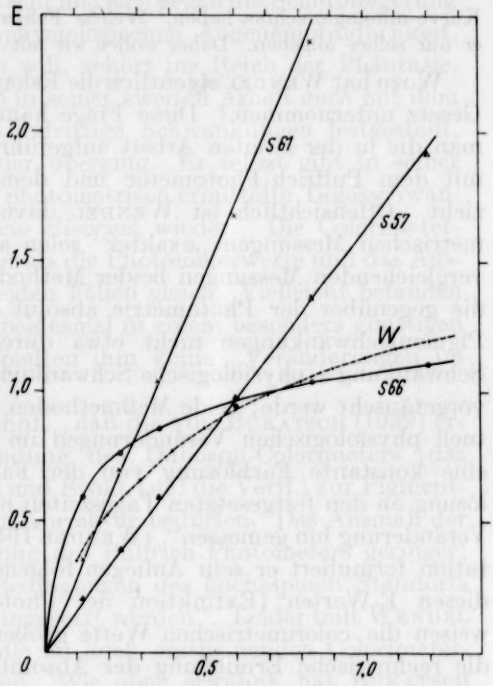

Abb. 1. Eichkurven von Chlorophyll-Lösungen (Chl. a : b = 3 : 1) in Äther. Pulfrich-Photometer mit Filtern S 66, S 61, S 57 gemessen. *W* von WENDEL mit S 66 ermittelte vergleichbare Kurve. — Abszisse: mg Chl. (a + b) in 15 ml Äther, Schichtdicke 3 cm. Ordinate: Extinktion (*E*)

[1] Die Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes zu bezweifeln, besteht gar kein Anlaß. Hätte WENDEL erst einmal die einschlägige Literatur über den Gebrauch von Photometern u. dgl. studiert, so hätte er nicht offene Türen einzurennen brauchen. In einer früheren Arbeit (SEYBOLD und WEISSWEILER 1942) haben wir uns übrigens mit dem Gültigkeitsbereich des Lambert-Beerschen Gesetzes bei Lösungen und Blättern befaßt, was WENDEL aber übersah.

[2] WIECKOWSKI (1957) hat seine Messungen (s. S. 366) ebenfalls mit dem Pulfrich-Photometer bei Verwendung des Filters S 61 durchgeführt. Für Chlorophyll a und b fand auch er — wie nicht anders zu erwarten ist — volle Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes.

durchzuführen. Die maximale Absorption von Chlorophyll a liege bekanntlich zwischen 600 und 650 mμ (an anderer Stelle derselben Arbeit wird aber gesagt, daß die Hauptabsorption für ätherische Lösungen von Chlorophyll a bei 663 mμ liege!) und daher sei die *Genauigkeit* der Messung im Spektralbereich größter Lichtabsorption am größten. Ohne Zweifel kann man Chlorophyll-Lösungen quantitativ ausmessen, wenn auch zwischen Konzentration und Extinktion keine Proportionalität besteht, notwendig ist es nur, daß die Eichkurve wirklich stimmt. Daß dies bei Wendel nicht der Fall ist, zeigt ebenfalls die Abb. 1, in der wir die Wendelsche Kurve miteingezeichnet haben. Welche Fehler Wendel hier gemacht hat, kann er nur selber angeben. Daher wollen wir mit Vermutungen nicht vorgreifen.

Wozu hat Wendel eigentlich die Eskapade auf das Lambert-Beersche Gesetz unternommen? Diese Frage kann man nur beantworten, wenn man die in der zweiten Arbeit aufgeführten vergleichenden Messungen mit dem Pulfrich-Photometer und dem Dubosqu-Colorimeter heranzieht. Offensichtlich ist Wendel davon überzeugt, daß die photometrischen Messungen „exakter" seien als die colorimetrischen. „Die vergleichenden Messungen beider Methoden sollten zweitens klären, ob die gegenüber der Photometrie absolut höher gefundenen Werte und Pigmentschwankungen nicht etwa durch die Summe — eigentliche Schwankung + physiologische Schwankung der Augenempfindlichkeit — vorgetäuscht werde; beide Meßmethoden wurden in Beziehung zu eventuell physiologischen Veränderungen im Sehvorgang untersucht, d. h. eine konstante Farblösung von der Farbintensität der Chlorophylllösung an den festgesetzten Tageszeiten nach beiden Methoden auf eine Veränderung hin gemessen" (Wendel 1949/50, S. 609). In seiner Dissertation formuliert er sein Anliegen folgendermaßen: „Im Gegensatz zu diesen E-Werten (Extinktion der Photometrie, ergänzt von Verff.) weisen die colorimetrischen Werte größere Abweichungen auf. Durch die rechnerische Ermittlung der Absolutmengen nach der Formel . . . muß die physiologische Schwankung in der Augenempfindlichkeit derart vergrößert werden, daß eine Konzentrationsveränderung größer vorgetäuscht wird, als der zur Extinktion des Photometers gehörige, direkt aus der Eichkurve ablesbare Absolutwert angibt" (Diss. S. 14). Aus der Tabelle 3 (Wendel 1949/50) ist aber zu entnehmen, daß das Dubosqu-Hellige-Colorimeter nicht durchwegs stärkere Schwankungen des Chlorophyllgehaltes gegenüber den Photometerwerten aufweist. Von *Ficus elastica* gibt Wendel folgende vergleichbare Zahlen an. Die Schwankungen [Maximum zu Minimum und Zwischenwert haben wir in Prozenten hinzugefügt (Tabelle 2)].

Im vorliegenden Fall weist also das Pulfrich-Photometer stärkere Schwankungen als das Dubosqu-Colorimeter auf! Wie will Wendel diese Ausnahme erklären? Wir sind überzeugt, daß das Colorimeter in richtigen Händen ein genauso brauchbares Instrument ist wie das Photometer. Die Herstellerfirma des Dubosqu-Colorimeters wird übrigens

Tabelle 2

	Morgens	Mittags	Abends	Morgens	Mittags	Abends
Pulfrich-Photometer . .	0,508	0,616	0,574	100	121	113
Dubosqu-Colorimeter . .	1,075	1,140	1,094	100	106	102

von WENDELs Urteil nicht erfreut sein und sich gegen die Schlußfolgerung verwahren. Die Erklärung der physiologischen Augenempfindlichkeit, wie sie WENDEL ermittelt haben will, gehört ins Reich der Phantasie. Im übrigen hat BUKATSCH (1942) in seiner zweiten Arbeit *auch* mit dem *Pulfrich-Photometer* erhebliche kurzfristige Schwankungen festgestellt, was WENDEL jedoch übersah oder überging. Er selbst gibt in seiner Dissertation colorimetrisch und photometrisch ermittelte Tagesschwankungen von Blättern von *Senecio clivorum* wieder. Die Colorimeterwerte liegen hier keineswegs höher als die Photometerwerte und das Ausmaß der Schwankungen ist in beiden Fällen gleich. Vielleicht befanden sich die Augen des Beobachters beidesmal in einem besonders günstigen physiologischen Zustand und spielten ihm keine „Veränderungen im Sehvorgang" einen Streich.

WENDEL (1957, S. 383) erwähnt, „daß die von BUKATSCH (1939) ermittelten Werte infolge Anwendung des Dubosqu-Colorimeters [das übrigens auch von WILLSTÄTTER und STOLL (sic! die Verff.) zur Pigmentmessung verwendet wurde] einer Korrektur bedürfen. Das Ausmaß der Schwankungen ist bei Anwendung des Pulfrich-Photometers geringer; dieses konnte aber unter den Bedingungen des hochalpinen Standorts seinerzeit von BUKATSCH nicht eingesetzt werden". Leider teilt WENDEL nicht mit, um welchen Betrag die zu hoch erscheinenden Colorimeterwerte vermindert werden müssen. Wie oben erwähnt, hat BUKATSCH in seiner zweiten Arbeit auch mit dem *Pulfrich*-Photometer recht erhebliche Schwankungen ermittelt. Bedürfen diese Werte nun einer Korrektur oder nicht?

Wir wollen uns jetzt der Hauptfrage zuwenden, ob die kurzfristigen Tagesschwankungen reell, oder ob die ermittelten Werte (von Meßfehlern abgesehen) nichts weiter als Abweichungen vom „Mittelwert" sind, die durch die Ungleichheit des Analysenmaterials bedingt werden. Diese Frage hat sich auch BUKATSCH, WENDEL und STEUER vorgelegt. „Wie die obenstehende Tabelle erweist, sind die Schwankungen innerhalb desselben Blattes nicht beträchtlich: die größten Abweichungen vom Mittelwert betragen bei *Adenostyles* für Chlorophyll a und b 6%, Carotin 3,5%, Xanthophyll 13%; bei *Rumex* für Chlorophyll a und b 3,9%, Carotin 5% und Xanthophyll 2,9%. — Immerhin mußten die Tagesschwankungen, falls vorhanden, diese Grenzwerte *weit* übersteigen, um einigermaßen für sicher zu gelten — und das taten sie" (BUKATSCH

1939, S. 266). Wendel gibt Unterschiede im Gesamtchlorophyllgehalt bei gleichzeitiger Probeentnahme mit 0,1—3,3% an (Dissertation, Tabelle 4, und 1957, Tabelle 1). Steuer findet im allgemeinen noch geringere Abweichungen (Tabelle 4). A. Bauer (1958), der sich auch mit dieser Frage beschäftigt, kommt zu dem Schluß: „Tagesschwankungen des Pigmentgehaltes müssen also die Grenzwerte unserer Methode von $\pm 2\%$ übersteigen, sollen sie als gesichert gelten" (S. 89). Kurzum, der Grad der Inhomogenität des Analysenmaterials und die Genauigkeit der Bestimmungsmethode muß in jedem Fall bekannt sein.

Wendel erscheint u. a. das Blatt von *Ficus elastica* besonders geeignet, da er hier Differenzen von nur 0,1—0,5% festgestellt haben will. (Dissertation 1942, S. 40b). Die Meßgenauigkeit des Pulfrich-Photometers gibt Wendel (1949, S. 74) allerdings mit 2% an! „Für diese Untersuchungen konnten sich auch keine geeigneteren[1] Pflanzen finden als *Ficus elastica* und *F. altissima*. Ihre homogenen gut widerstandsfähigen Blätter weisen im ausgewachsenen Zustand kaum einen Unterschied in der Pigmentverteilung innerhalb der Blattfläche auf und ermöglichen ohne störende Blattnervatur eine gewünschte spiegelbildliche Entnahme der Analysenproben." So „homogen" ist das *Ficus*-Blatt aber wieder nicht! Wir haben die Relativzahlen der Abb. 3 mit dem Kurzverfahren ermittelt, das wir auf S. 361 schildern.

Während Wendel (1942) bei *Aristolochia sipho* und *Polygonum sacchalinense* durchaus keine einheitlichen Tagesgänge des Chlorophyllgehaltes gefunden hat und daher „verschiedene Reaktionstypen" vermutete, ist in seiner späteren Arbeit (1957) gar nicht mehr die Rede davon. Die in der Dissertation mitgeteilten Tagesgänge von *Polygonum* zeigen in 6 Fällen ein Mittagsmaximum, in 4 Fällen ein Mittagsminimum! Was kann man aber schon mit 3 Kurvenpunkten anfangen (s. unten)! Auch bei *Aristolochia* ist ein charakteristischer Tagesgang der CS nicht zu erkennen, vielmehr sprechen mehrere Messungen für eine Konstanz des Chlorophyllspiegels.

In der Arbeit von 1957[2] beschränkt sich Wendel einerseits auf die Wiedergabe von CS bei *Rumex alpinus* und *Adenostyles albifrons* (Freilandpflanzen), andererseits auf *Ficus elastica* und *F. altissima* (Gewächshauspflanzen). Die Kurven sind jeweils auch nur mit 3 Werten (morgens, mittags und abends) gezeichnet, wie auch in den Tabellen stets nur 3 solche vergleichbaren Werte enthalten sind. Wir halten es für unzulässig, mit 3 „Punkten" einen Tagesgang der CS zu konstruieren. Hätte Wendel täglich von seinen Versuchsobjekten mindestens 6 Messungen gemacht, dann wären ihm wohl innerhalb von 2 Std ebenso große

[1] bei Wendel „geeignete"

[2] Die wesentlichen Teile dieser Arbeit entstammen der Dissertation Wendels (1942), was aber unerwähnt bleibt.

richtungslose Schwankungen (bis 20%) begegnet, wie sie STEUER (1945) gefunden hat. Wenn man eine so wichtige Feststellung gemacht haben will, daß der Chlorophyllspiegel in ausgewachsenen Blättern entgegen der herrschenden Lehrmeinung so erheblich schwankt, dann wären stündliche Analysen durchzuführen gewesen und die ermittelten Werte hätten einer Varianzanalyse unterworfen werden müssen. BAUER (1959), ein unabhängiger Kritiker WENDELS, ist so verfahren und der eine von uns (SEYBOLD) hat 1942 auch in ein- oder zweistündigen Intervallen Messungen an *Rumex alpinus*, *Helianthus annuus*, *Aristolochia sipho* und *Malva rosea* durchgeführt[1]. Die im folgenden mitgeteilten Analysenwerte sind zwar auch nur in vierstündigen Intervallen gewonnen worden, uns ging es aber nicht um den Nachweis kurzfristiger CS, sondern lediglich um eine zusätzliche Überprüfung der Streitfrage, die von uns (SEYBOLD 1942, EGLE 1943, BAUER 1958 u. a.) bereits entschieden worden ist.

Die umfangreiche Dissertation von STEUER (1945) (es sind insgesamt 1500 Chlorophyllanalysen mit 116 Tag-Nacht-Gängen durchgeführt worden) erscheint insofern als ein Fortschritt, weil in allen Fällen die beiden Chlorophyllkomponenten chromatographisch ermittelt wurden und sie sich nicht mit 3 Zeitpunkten (morgens, mittags, abends) wie WENDEL begnügte, um einen „Tagesgang" des Chlorophyllgehaltes zu erfassen. STEUER hat hingegen den 24stündigen Tag-Nacht-Gang ermittelt, indem sie meist alle 2 Std eine Bestimmung des Chlorophyllgehaltes vornahm. Das Ergebnis, daß kurzfristige CS nicht nur im Gesamtpigmentgehalt, sondern auch im Quotienten a/b vorhanden seien, stützt sich auf ein großes Zahlenmaterial, was dafür zu sprechen scheint, daß die Schwankungen reell sind und sie nicht nur Abweichungen vom Mittelwert darstellen. „Wenn die Inkonstanz des Chlorophyllspiegels so oft auftritt, muß doch an der Sache etwas dran sein!" Dieser Schluß ist aber nicht zwingend. Man kann mit einer ungenauen Methode keine sicheren Resultate zeitigen, man mag die Messung durchführen, so oft man will. Leider kommt die statistische Seite in der mühsamen Arbeit von STEUER zu kurz. Zum Beispiel werden von *Ficus*-Blättern nur jeweils 2 zu verschiedener Tageszeit entnommene Proben einander gegenübergestellt und bei weiteren 8 Arten, die zur Untersuchung dienten, begnügte sich STEUER auch mit 2—3 Proben. Während die prozentualen Abweichungen solcher Probeentnahmen erstaunlich gering sind (Chl. a 0,1—1,8%, Chl. b 0,0—2,1%, a + b = 0,1—1,9%) muß man die Amplituden der Tag-Nacht-Gänge als erheblich bezeichnen (max. Abweichung bei *Ficus elastica*

[1] Vielleicht haben WENDEL u. a. diese Befunde übersehen, weil die Mitteilung der Meßdaten, die eben keine wesentlichen Differenzen zeigten, unterblieb. Ich war damals der Meinung, daß der eindeutig negative Befund eine Publikation der stetig gleichen Zahlen überflüssig mache, was sich aber als ein Fehler erwies.

Chl. a 43,6%, Chl. b 73,1%, *Musa cavendishii* Chl. a 31,5%, Chl. b 110,5%). Aus der nicht leicht zugänglichen, mit Bienenfleiß gewonnenen Dissertation von Steuer sind in Abb. 2 einige Beispiele wiedergegeben. Der Zickzackverlauf dieser und anderer Kurven ist groß, nicht selten treten Differenzen von 20% innerhalb weniger Stunden auf, was die Vermutung nahelegt, daß es sich bei solchen nicht eindeutig gerichteten, wechselnden Werten von Analyse zu Analyse gar nicht um Schwankungen des Chlorophyllspiegels, sondern eben um Abweichungen des Pigmentgehaltes im Blattmaterial handelt. Steuer läßt uns auch darüber im unklaren, welche Dimensionen ihre Adsorptionsröhren hatten. Sie schreibt nur, daß beide aus der Stärkesäule geschnittenen Chlorophyllzonen in Äther eluiert und auf ein Volumen von 12 cm^3 „aufgefüllt" (!) wurden. Jeder, der selbst Erfahrungen mit der Chromatographie gemacht hat, weiß, daß eine Elution mit so geringen Mengen Äther nicht die Gewähr für ein quantitatives Herauslösen des Pigmentes gibt. Kurzum, man könnte das Verfahren von Steuer zu den Mikromethoden rechnen, für dessen Genauigkeit die Angaben fehlen. A. Bauer (1958, S. 95) hat bereits mit Recht darauf hingewiesen, daß die relativ großen CS der Komponente b im Tagesgang wohl darauf beruhen, daß sich die verhältnismäßig geringen Mengen von Chl. b prozentual stärker auswirken als bei der prävalierenden Komponente a.

Die Auffassung Steuers (S. 25): „nach vorliegenden Untersuchungen muß Chlorophyll b viel schneller abgebaut und rekonstruiert werden als Chlorophyll a, weil die prozentualen Schwankungen von Chlorophyll b viel größer sind als von Chlorophyll a", steht mit unseren Beobachtungen und denen anderer Forscher nicht in Einklang. Die Komponente b hat sich bei ausgewachsenen Blättern gegenüber Chl. a als resistenter erwiesen.

Über die Photometrie der Eluate schreibt Steuer (S. 11): „Auf Grund der im Zeissschen Pulfrich-Photometer im Mittel 3—5 Ablesungen ermittelten Extinktion konnte die Konzentration der Lösung nach Eichkurven für Chlorophyll a und Chlorophyll b, die mir Herr Dr. Bukatsch in freundlicher Weise überließ, bestimmt werden. Die Genauigkeit der Eichkurven bedarf keiner Kritik, da es sich bei meinen Untersuchungen lediglich um Relativwerte handelt. Die Chlorophyllmenge (a + b) ergibt sich aus der Addition der Werte von Chlorophyll a und Chlorophyll b. Da die Hauptabsorption im Rot für Chlorophyll a bei 660 mμ, für Chlorophyll b bei 640 mμ liegt, fanden für Chlorophyll a im Pulfrich-Photometer das Filter S 66 und für Chlorophyll b S 64 Verwendung." Da wir die Eichkurven, die Steuer verwendete, nicht kennen, läßt sich nur vermuten, daß sie keine Geraden waren, was die Meßgenauigkeit möglicherweise beeinträchtigt. Was Steuer mit dem Satz: „die Genauigkeit der Eichkurven bedarf keiner Kritik usw." sagen will, ist uns nicht verständlich, da in der Arbeit die ermittelten Chlorophyllwerte durchwegs in

Gamma pro Flächeneinheit bzw. Frischgewicht angegeben sind. Ob Steuer übrigens einwandfrei chromatographierte, ist eine offene Frage. Die photographischen Spektralaufnahmen von Chl. a und b, die der

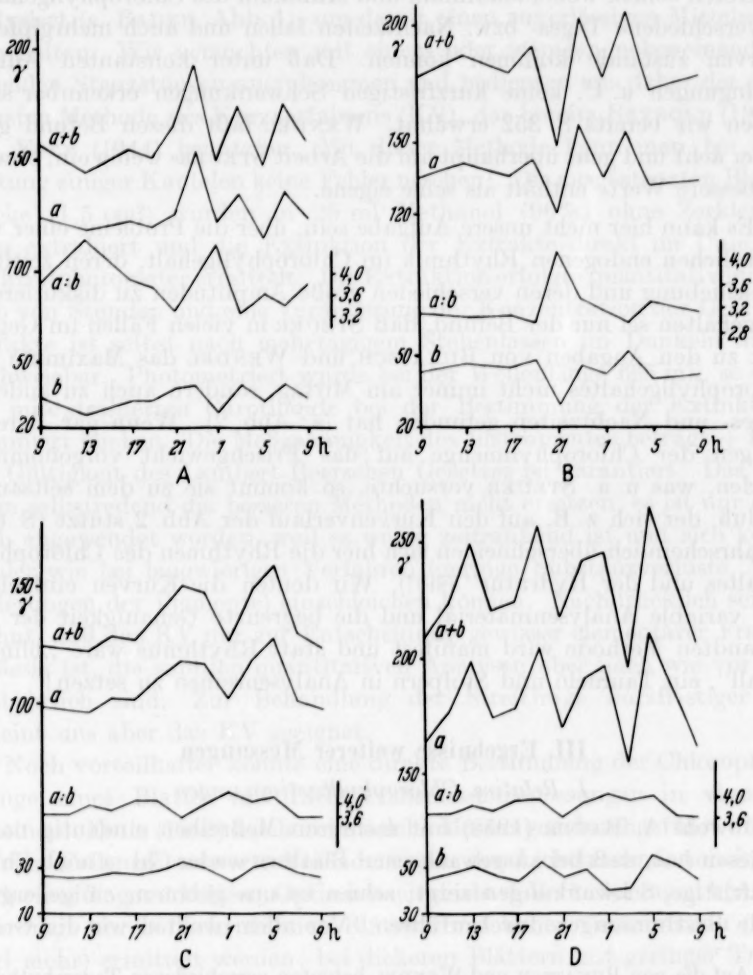

Abb. 2. „Tag- und Nacht-Gänge" des Chlorophyllgehaltes nach Steuer (1945). A *Ficus elastica* (14./15. Dezember), B *Musa cavendishii* (5./6. März), C und D *Centaurea rhapontica* (6./7. August). — Ordinatenwerte bei A und B Chlorophyll pro 2 cm², C pro 4,15 cm² Blattfläche, D pro 100 mg Frischgewicht. Rechtsliegende Skala für Chl.*a*/*b* gültig

Arbeit beigegeben sind und auch von Wendel (1957) publiziert wurden, sagen nichts über die Reinheit der beiden Chlorophyllkomponenten aus; dazu wären Aufnahmen von höheren Konzentrationen unter Beachtung der Banden bei 456 und 432 mμ (Fischer-Orth 1940, S. 340) notwendig gewesen. Kurzum, in methodischer Hinsicht sind die Messungen von

Steuer nicht stich- und hiebfest. Unterstellen wir der Arbeit ausreichende Exaktheit, dann kann man das Ergebnis dahin zusammenfassen, daß Schwankungen von etwa 20% (in einigen Fällen bis zu 50%) auftreten sollen, wobei Maximum und Minimum des Chlorophyllgehaltes in verschiedene Tages- bzw. Nachtzeiten fallen und auch mehrgipfelige Kurven zustande kommen können. Daß unter konstanten Außenbedingungen u. U. keine kurzfristigen Schwankungen erkennbar sind, haben wir bereits S. 352 erwähnt. Wendel läßt diesen Befund ganz außer acht und geht überhaupt auf die Arbeit Steuers wenig ein, obwohl sie bessere Werte enthält als seine eigene.

Es kann hier nicht unsere Aufgabe sein, über die Probleme einer vermeintlichen endogenen Rhythmik im Chlorophyllgehalt, deren zeitliche Verschiebung und deren verschieden große Amplituden zu diskutieren[1], festgehalten sei nur der Befund, daß Steuer in vielen Fällen im Gegensatz zu den Angaben von Bukatsch und Wendel das Maximum des Chlorophyllgehaltes nicht immer am Mittag, sondern auch zu anderen Tages- und Nachtzeiten gefunden hat (s. Abb. 2). Wenn gar Berechnungen der Chlorophyllmenge auf das Frischgewicht vorgenommen werden, was u. a. Steuer versuchte, so kommt sie zu dem seltsamen Schluß, der sich z. B. auf den Kurvenverlauf der Abb. 2 stützt (S. 60): „Wahrscheinlich überschneiden sich hier die Rhythmen des Chlorophyllgehaltes und der Hydratur" (sic!). Wir deuten die Kurven einfacher: Das variable Analysenmaterial und die begrenzte Genauigkeit der angewandten Methode wird manifest und statt Rhythmus wäre „blinder Zufall", ein Taumeln und Stolpern in Analysenreihen zu setzen!

III. Ergebnisse weiterer Messungen

1. Relative Chlorophyllbestimmungen

Obwohl A. Bauer (1958) mit mehreren Meßreihen eindeutig nachgewiesen hat, daß bei ausgewachsenen Blättern weder Chl. a noch Chl. b kurzfristige Schwankungen zeigt, schien es uns geboten, einige ergänzende Bestimmungen durchzuführen. Vor allem wollten wir die Größe

[1] Auf die von Bukatsch und Wendel betonten verschiedenen Tagesrhythmen der Pflanzen vom Schachen und München sind wir auch nicht eingegangen, da uns die wenigen Versuchsergebnisse als Zufälligkeiten erscheinen. — Auch der Befund Steuers, daß *Ficus*-Blätter bei 21 Bestimmungen im Laufe des Jahres 16mal ein Maximum, 5mal ein Minimum (obere Stammregion) bzw. 14mal ein Maximum und 7mal ein Minimum (untere Region) um die Mittagszeit zeigen, scheint uns nichts anderes als ein Ausdruck der Variabilität. Es waltet auch hier das „Gesetz des Zufalls", nichts weiter. — Auffallend ist es auch, daß die Amplituden der CS nachts stärker ausgeprägt sind als tagsüber (s. Abb. 2, S. 359). Spielt hier nicht eine physiologische Komponente, die Ermüdung der Analytikerin mit, ganz abgesehen davon, daß erfahrungsgemäß bei künstlichem Licht eine exakte Chromatographie kleiner Chlorophyllmengen schwierig ist?

der intraindividuellen Schwankungen im Chlorophyllgehalt einzelner Blätter ermitteln, die bei dem Verfahren von BAUER nicht hervortreten können. Er hat nämlich bei einer Probeentnahme jeweils von verschiedenen Stellen eines Blattes gleichzeitig mehrere Stanzstücke zusammen analysiert (s. BAUER, Abb. 1), um damit einen zuverlässigen Mittelwert zu erhalten. Wir versuchten mit einem oder wenigen nebeneinanderliegenden Stanzstücken auszukommen und bedienten uns daher der einfachsten Methode des Kurzverfahrens (KV), das bereits SEYBOLD (1942) und EGLE (1944) benutzten. Mit dieser Methode kann man bei Beachtung einiger Kautelen keine Fehler machen[1]. Die ausgestanzten Blattstücke (1,5 cm^2) wurden in 25 ml Methanol (96%) ohne Zerkleinerung extrahiert und die Extinktion der Extrakte direkt im Unicam-Spektralphotometer ermittelt. Die Extraktion erfolgte quantitativ innerhalb von Stunden und eine Veränderung der Konzentration der Gesamtextrakte ist selbst nach mehrtägigem Stehenlassen im Dunkeln nicht nachweisbar. Photometriert wurde bei der Wellenlänge 665 mμ, so daß die mitextrahierten Carotinoide bei der Bestimmung der Extinktion eliminiert blieben. Die Meßgenauigkeit des Instrumentes beträgt $\pm 1\%$; die Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes ist garantiert. Das KV kann selbstredend die besseren Methoden nicht ersetzen, es ist nur deshalb angewendet worden, weil es wenig zeitraubend ist und sich keine Fehler wie bei langwierigen Verfahren (geringe Substanzverluste, Veränderungen der Pigmente) einschleichen können. Nachdrücklich sei erwähnt, daß das KV nur zur Entscheidung gewisser elementarer Fragen zulässig ist, die subtilen quantitativen Analysen aber nach wie vor unentbehrlich sind. Zur Behandlung der Streitfrage kurzfristiger CS scheint uns aber das KV geeignet.

Noch vorteilhafter könnte eine direkte Bestimmung der Chlorophyllmenge eines Blattes mit Licht-Transmissionsmessungen in vivo erscheinen. EGLE (1942) hat bereits solche Messungen durchgeführt und in keinem Fall nennenswerte Veränderungen der Lichttransmission innerhalb eines Tages erhalten. Optisch nachweisbare Veränderungen könnten allerdings nur bei sehr dünnen Blättern mit hoher Transmission (30% und mehr) ermittelt werden; bei dickeren Blättern mit geringer Transmission wäre ein optischer Effekt nur zu erwarten, wenn der Chlorophyllgehalt erheblich schwankte (s. EGLE, S. 102). Bei allen diesen Überlegungen muß man über den möglichen Einfluß der Chloroplastenverlagerung hinwegsehen (s. SEYBOLD 1956).

[1] Wenn WENDEL (Diss., S. 37) schreibt: „An der Feststellung einer auffallenden Konstanz bis zu höchstens 2% dürfte die langwierige und Zersetzungen nicht ausschließende Methode SEYBOLDs mitschuldtragend sein", so ist diese Behauptung hinfällig, da zur Prüfung der Frage kurzfristiger CS das KV angewendet wurde und eine chromatographische Trennung in diesem Fall gar nicht erfolgte. Unser chromatographisches Verfahren brauchen wir nicht zu verteidigen (s. SEYBOLD 1950/51).

Um die räumliche Verschiedenheit im Chlorophyllgehalt des vielbenutzten Blattes von *Ficus elastica* zu prüfen, haben wir von 2 Blättern jeweils 12 Proben rechts und links der Blattmittelrippe gleichzeitig entnommen und die Extinktion der methanolischen Extrakte gemäß obiger Angabe bestimmt. Die Abb. 3 veranschaulicht die Verteilung der Proben und die beigefügten Kurven zeigen die entsprechenden Extinktionswerte. Einerseits treten Differenzen im Farbstoffgehalt zwischen rechts und

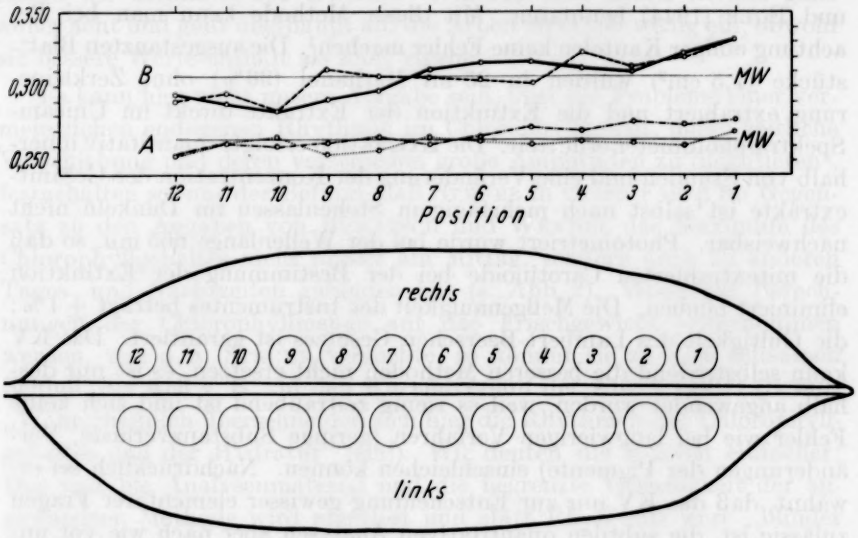

Abb. 3. *Ficus elastica*. 18. 12. 58. Variabilität des Chlorophyllgehaltes einzelner Stanzstücke von 2 Blättern. *Position 1 . . . 12* rechts und links der Blattmittelrippe. Blatt *A*: –·–·– links, ····· rechts, Blatt *B*: ——— links, – – – – rechts. Ordinate: Extinktion *E* bei 665 mμ mit *Unicam* gemessen. Errechneter Mittelwert *MW*

links öfters deutlich zutage und andererseits ist ein annähernd kontinuierlicher Abfall von der Blattspitze zur Basis zu erkennen. Eine Berechnung der Standardabweichung vom Mittelwert beträgt bei Blatt A $\pm 2{,}8\%$, bei Blatt B $\pm 5\%$. Da schon bei einer *gleichzeitigen* Probeentnahme längs der Mittelrippe von Position 1 . . . 12 so deutliche Differenzen erscheinen, können solche Abweichungen bei *zeitlich verschiedener* Entnahme keinen Aufschluß über die CS im Sinne der Streitfrage geben, da selbst „spiegelbildliche" Stanzstücke klare Differenzen aufweisen. Erstaunlich ist es, daß Wendel bei einer entsprechenden Prüfung gleichzeitiger Probeentnahme eine Abweichung von nur 0,1% und Steuer eine solche von 0,4% angegeben haben. Allerdings tritt in der Tabelle 6 bei Wendel (1957; nach 250 Std Verdunkelung) zwischen rechts und links auch eine größere Differenz auf, nämlich 7%! In der Tabelle 3 sind ebenfalls viele Beispiele dieser Art zu finden.

Tabelle 3. *Ficus elastica*. Versuchsbeginn: 10. Dezember 1958

	Uhrzeit	Blatt A		Blatt B	Blatt C	Blatt D	
		links	rechts			links	rechts
Beginn	9^{00}	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Nach 4 Std . . .	13^{00}	98,0	99,3	95,5	99,2	99,6	114,0
Nach 10 Std . .	19^{00}	105,2	104,3	95,8	102,9	114,6	128,7
Nach 1 Tag . . .	9^{00}	103,5	97,0	93,6	102,3	133,3	138,0
	13^{00}	106,8	98,0	99,0	100,9	127,6	141,3
	19^{00}	103,5	97,6	99,7	102,3	118,9	138,7
Nach 2 Tagen . .	9^{00}	103,1	95,4	94,2	94,4	136,3	135,3
	13^{00}	98,3	97,6	98,7	101,2	135,7	137,3
	19^{00}	102,3	94,3	92,6	100,0	138,4	137,3
Nach 4 Tagen . .	9^{00}	103,5	81,0	93,9	96,4	129,0	134,8
	13^{00}	96,6	93,6	90,4	94,4	130,4	132,0
	19^{00}	97,9	93,6	91,7	96,4	123,9	132,7
Nach 5 Tagen . .	9^{00}	96,9	87,3	103,6	94,6	105,8	124,7
	13^{00}	99,3	95,6	94,2	91,5	126,8	132,0
	19^{00}	96,2	93,3	92,0	93,5	115,9	131,2
Nach 10 Tagen .	9^{00}	93,5	89,3	87,2	85,8	116,6	129,3
	13^{00}	95,2	87,3	86,5	86,2	115,1	129,9
	19^{00}	92,1	86,7	84,3	81,9	112,2	127,9
Nach 14 Tagen .	9^{00}	72,6	72,3	63,8	56,4	105,7	124,5
	13^{00}	70,9	72,3	62,2	51,9	106,1	116,6
	19^{00}	72,3	72,3	54,2	58,6	127,3	118,4

In Anlehnung an einen Versuch von WENDEL (1957, S. 391) bestimmten wir mittels des KV den Chlorophyllgehalt von 4 Blättern einer etwa 60 cm hohen, eingetopften Pflanze von *Ficus elastica* bei tagelanger Verdunklung. Die Pflanze verblieb während des Versuches in einem Dunkelraum mit einer Temperatur von 19—20° C. Von den Blättern A und D wurde jeweils eine Probe (Fläche = 1,5 cm^2) links und rechts der Mittelrippe entnommen. Das Blatt A war ausgewachsen und von dunkelgrüner Farbe, das junge Blatt D hingegen wies hellgrüne Färbung auf und hatte etwa die Hälfte des Pigmentgehaltes von Blatt A. Da das junge Blatt D aber ungefähr so groß war, wie die älteren Blätter, schien sein Flächenwachstum beendet oder von diesem Zustand nicht weit entfernt. Von dem Blatt B wurde wahllos über die Fläche zerstreut jeweils eine Probe (= 1,5 cm^2), von dem Blatt C hingegen ebenfalls wahllos je 4 Proben ($4 \times 0{,}52 = 2{,}1$ cm^2) entnommen.

Aus den Werten der Tabelle 3 kann man mit dem besten Willen kein einheitliches Resultat hinsichtlich eines Tagesganges im Sinne WENDELS ablesen. Es finden sich ebenso viele Einzelfälle mit einem Mittagsmaximum wie solche mit einem Mittagsminimum. Wenn man die Mittelwerte aus der Tabelle 6 der Arbeit WENDELS (1957) berechnet, so ergeben

sich folgende Zahlen: morgens → mittags → abends: 0,78 → 0,79 → 0,78, d. h. von einer „endogenen Rhythmik" bleibt nichts mehr übrig.

In Übereinstimmung mit Wendel hält sich der Chlorophyllspiegel bei *Ficus*blättern tagelang; in unserem Versuch tritt bei älteren Blättern erst nach fünftägiger Verdunkelung eine leichte Senkung ein, bei dem jungen Blatt ist diese noch geringer. Bei diesem ist übrigens in den ersten Tagen nach der Verdunklung noch eine deutliche Zunahme des Chlorophyllgehaltes wahrzunehmen. Daß eine eingeleitete Chlorophyllbildung auch im Dunkeln bei vorher belichteten Blättern weitergeht, ist unverkennbar (s. S. 369).

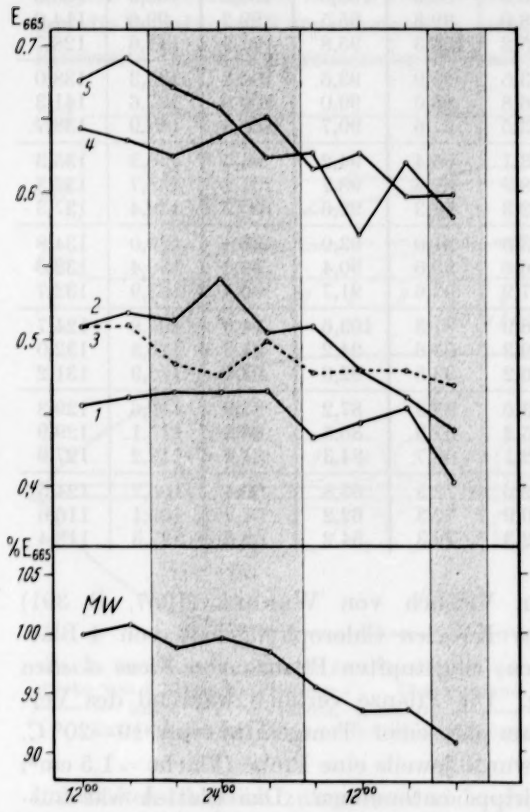

Abb. 4. *Euphorbia pulcherrima*. 10. 11. 58. Oberer Teil: „Tages-Nacht-Gänge" des Chlorophyllgehaltes von 5 einzelnen Blättern (s. Text). Abszisse: Uhrzeit, Ordinate: Extinktion. Unterer Teil: Mittelwerte der 5 Kurven, Ordinate: relative Extinktionswerte, Anfangswert = 100 gesetzt

Der Abfall des Chlorophyllspiegels kann verschiedene Ursachen haben. Diese Frage soll hier nicht diskutiert werden, es sei nur erwähnt, daß wahrscheinlich auch durch den Eingriff der Probenahmen von Stanzstücken der physiologische Zustand des Blattes sich ändert, was u. a. auch die Resistenz des Chlorophylls beeinträchtigt.

Summa summarum läßt sich aus der Tabelle 3 entnehmen, daß 1. keine tagesrhythmischen CS vorhanden sind und 2. daß das Blatt von *Ficus elastica* ein ausgeprägtes skotostabiles Verhalten des Chlorophylls zeigt (s. S. 348).

Egle (1943) hat bereits mehrere Pflanzenarten hinsichtlich der Pigmentresistenz bei längerer Verdunklung geprüft und unter anderem festgestellt, daß Chl. b gegenüber Chl. a sich resistenter erwies. Der Quotient a/b nimmt daher ab, allerdings oft nur unerheblich.

Dem skotolabilen Typus gehören dagegen die Blätter von *Euphorbia (= Poinsettia) pulcherrima* an. Wie die Abb. 4 zeigt, weisen alle 5 Blätter (3 gehörten einer heller grünen, 2 einer dunkler grünen Pflanze an) nach 20 Std eine fallende Tendenz der Chlorophyllgehalte auf. Dieses Verhalten sollte hier nicht weiter analysiert werden; es ging uns vielmehr nur darum, festzustellen, ob periodische CS im normalen Tag-Nachtablauf vorhanden sind oder nicht. Die Kurven der Abb. 4 sprechen für sich selbst. Errechnet man den Mittelwert, dann „verflüchtigen" sich die „Schwankungen", die nichts anderes sind als die üblichen Abweichungen, die dem Analysenmaterial eigen sind. Egle (1943) hat bei *Euphorbia pulcherrima* auch keine nennenswerten Schwankungen im Chlorophyllgehalt von 6^{30}—19^{30} Uhr (etwa einstündige Intervalle) feststellen können.

Außer *Ficus elastica* und *Euphorbia pulcherrima* gewannen wir auch noch „Tages-Nacht-Gänge" des Chlorophyllgehaltes von Blättern der Freilandpflanzen *Catalpa syringifolia* und *Hydrangea hortensis, var. mariesii*. Die Probeentnahme bei *Catalpa* (gleichzeitig je 3 Proben benachbarter Stellen bei 3 Blättern) ist zu folgenden Zeiten vorgenommen worden: 16, 21, 6, 10, 13, 17, 21, 8, 12 und 18 Uhr. Bei *Hydrangea* (an 5 Blättern durchgeführt; je 3 Stanzstücke) erfolgten die Probeentnahmen um 10, 13, 16, 19, 24, 7 und 10 Uhr. Das Resultat war sehr uneinheitlich: Die Variabilität des Blattmaterials ist so erheblich, daß man aus dem Kurvenverlauf ohne Voreingenommenheit keine statistisch gesicherten rhythmischen CS herauslesen kann. Maxima und Minima können zu allen Tages- und Nachtzeiten auftreten. Die Amplituden der unstetig verlaufenden Kurven sind nichts anderes als Ausdruck der intraindividuellen Variabilität des Chlorophyllgehaltes der Blätter. Wir können auf die Wiedergabe der Resultate verzichten, da A. Bauer (1958) bereits Analysenresultate von *Catalpa* (Tabelle 5) veröffentlicht hat, die methodisch unseren überlegen sind.

2. Quantitative Chlorophyllbestimmungen

Bei unserer bisherigen kritischen Sichtung der vorliegenden Arbeiten über kurzfristige CS sind die quantitativen Angaben der ermittelten Pigmentgehalte nicht zu ihrem Recht gekommen. Sie könnten allein schon ein ausreichendes Kriterium für den Wert einer Arbeit sein: wenn die absoluten Daten nicht einwandfrei sind, wird man vermeintlichen Pigmentschwankungen mit Vorsicht begegnen. Wie wir eingangs betonten (s. S. 340) ist es aber nicht leicht, Chlorophyllmengen quantitativ zu bestimmen, so daß man Unzulänglichkeiten in gewissen Grenzen tolerieren sollte.

Von einigen Versuchspflanzen liegen vergleichbare Werte verschiedener Autoren vor. Wir begnügen uns hier mit der Wiedergabe

vergleichbarer Daten von 2 Pflanzenarten (Tabelle 4). Aus der Tabelle ist zu entnehmen, daß eine leidliche Übereinstimmung der Werte besteht, die Maximalwerte von Bukatsch (1941, 1942) und Wendel (1942, 1950 und 1957) aber ausgenommen. Diese liegen das Doppelte und mehr zu hoch und können nicht durch Verschiedenheit des Pflanzenmaterials erklärt werden. Wendels Angaben haben wir bereits in Übereinstimmung mit A. Bauers (1958) Annahme, daß es sich in dessen Arbeiten nicht um Milligramm, sondern um Gamma handelt, entsprechend korrigiert. Das reicht aber nicht aus, um eine Übereinstimmung zu erzielen[1]. Die Frage, wie Bukatsch und Wendel zu solch hohen Chlorophyllgehalten bei *Rumex* und *Ficus*, sowie anderen Versuchspflanzen kamen, können nur sie allein beantworten. Feststeht, daß die mitgeteilten Daten falsch und endgültig auszuscheiden sind.

Tabelle 4

	mg Chlorophyll (a + b) in 100 cm² Blattfläche	Chl.a/Chl.b
Rumex alpinus		
Bukatsch 1939 (graphischer Darstellung entnommen)	3,3—10,5	
Wendel 1957 (Tabelle 2)	6,6— 9,0	
Steuer 1945 (Tabelle 18)	3,9— 5,5	4,0
Seybold 1942 (Tabelle 4)	5,3	4,7
Bauer 1958 (Tabelle 3) .	4,3	2,7
Wieckowski 1957 (S. 669)	3,6	2,7
Ficus elastica		
Wendel 1957 (Tabelle 5)	8,8—17,4	
Steuer 1945 (Tabelle 14)	6,4	4,3
Seybold 1942 (unveröffentlicht) . .	7,0	4,6
Falk 1958 (unveröffentlicht) . .	6,6	2,5

Wenn Wendel (1942, S. 21) schreibt: „Seybold versuchte unseren Untersuchungen geradezu Wissenschaftlichkeit und Exaktheit abzusprechen und belastet unsere Ergebnisse mit Zweifeln jeder Art", so braucht dem nicht widersprochen zu werden, wohl aber dem folgenden Satz: „Geht es ihm in der Hauptsache doch darum, daß der Chlorophyllgehalt in kleineren und größeren Zeiträumen absolut konstant bleibt, d. h. er glaubt an eine völlige Konstanz der Gesamtchlorophyllmenge (ebenso an die des a/b-Quotienten) mit Abweichungen bis größtenfalls 2%. Ist doch gerade diese Konstanz der Grundpfeiler für alle bisher angestellten Untersuchungen in der Chlorophyllphysiologie bewiesen". Wer unsere eigenen Arbeiten kennt, weiß, daß wir mehrere Fälle mitteilten, bei denen in größeren Zeiträumen sowohl die Chlorophyllmenge

[1] Vielleicht hat sich Wendel auch bei der Angabe der Korkbohrerfläche vertan. Wenn die Stanzstücke des in Abb. 7 wiedergegebenen *Ficus*-Blattes 4,15 cm² betrugen, müßte das photographierte Blatt eine Länge von etwa 60 cm gehabt haben! Ob *Ficus* in München solch große Blätter trägt?

als auch der Quotient Chl.a:b sich änderten. Das hat aber mit kurzfristigen CS nichts zu tun! Wenn die Konstanz sich als Grundpfeiler in der Chlorophyllphysiologie erwiesen haben soll, so kann das doch nur heißen, daß man ohne das Postulat der Chlorophyllkonstanz nicht ausgekommen wäre. Hier irrt WENDEL jedoch abermals. Hätten sich kurzfristige CS ergeben, dann hätte man sie in Rechnung gesetzt, warum auch nicht! Die Forschung muß auf gesicherten Tatsachen aufbauen, und kann sich nicht mit fragwürdigen Daten begnügen, erst recht nicht mit voreiligen Spekulationen. Aus diesem Grund brauchen wir auch keine Kritik an den Schlußfolgerungen, die WENDEL, STEUER u. a. vorbrachten, zu üben.

IV. Bemerkungen zu Isotopenversuchen

Mehrere Arbeiten der letzten Jahre erbrachten den Nachweis, daß bei Anwendung von Isotopen (C^{14}, N^{15}) die Chlorophylle in grünen Blättern einer ständigen Synthese und einem Zerfall unterliegen [ROUX u. HUSSON 1952; TURCHIN u. Mitarb. 1953, zit. nach PIRSON, Fortschr. Bot. 17, 523 (1954); GODNEV u. SHLYK 1955, 1956; KUTJURIN 1956]. Aus diesem Verhalten darf aber nicht geschlossen werden, daß der „Chlorophyllspiegel" eines Blattes sich zwangsläufig ändert, also kurzfristige CS resultieren müssen. GODNEV und SHLYK (1955) fassen den Sachverhalt folgendermaßen zusammen: "The results obtained show that the chlorophyll carrying apparatus of the green leaves does not remain stable, the chlorophyll being in constantly renewed and decomposed. The synthesis of chlorophyll in the living plants apparently preceeds rather intensively even though the total amount of chlorophyll does not change". Träten reelle Schwankungen im Chlorophyllgehalt ausgewachsener Blätter auf, so könnte man wohl mit Recht daraus folgern, daß der ständige Aufbau und der Abbau von Chlorophyll nicht das gleiche Ausmaß hätten, sondern bald der eine, bald der andere Vorgang vorherrsche, sie sich also nicht die Waage hielten. Die *Unterschiede* zwischen Bildung und Zerstörung der Chlorophyllmoleküle müßten also solche Ausmaße annehmen, daß CS im Sinn der Streitfrage resultierten.

Wenn nun keine nachweisbaren CS in ausgewachsenen Blättern vorhanden sind, darf daraus aber nicht geschlossen werden, daß die mit Isotopenanwendung ermittelten Befunde des ständigen Chlorophyllauf- und -abbaues falsch wären. Die Vorstellung eines dynamischen Gleichgewichts im Chlorophyllgehalt eines Granums, Plastiden bzw. Mesophylls kann wohl zu Recht bestehen, selbst wenn der Chlorophyllgehalt im ausdifferenzierten Blatt konstant bleibt. Kurzum, die Isotopenversuche können zunächst für die Streitfrage der CS weder ein positives noch negatives Argument abgeben.

V. Zur Frage der Chlorophyllbildung in wachsenden Blättern

Im vorhergehenden haben wir gelegentlich bereits darauf hingewiesen, daß die auftretenden Veränderungen des Chlorophyllgehaltes bei wachsenden Blättern innerhalb kurzer Zeitabschnitte nicht mit kurzfristigen CS ausgewachsener Blätter gleichgesetzt werden dürfen, falls solche vorhanden wären. Wenn Willstätter und Stoll (1918, S. 40) schreiben: „daß der Chlorophyllgehalt nie während der Assimilation abnahm, daß er bei chlorophyllarmen Blättern der Aureavarietäten konstant blieb und bei sehr jungen Blättern sowie bei etiolierten während der Assimilationsversuche etwas anstieg", so ist damit klar ausgedrückt, daß zwar nur von einer Konstanz des Chlorophyllspiegels bei ausgewachsenen Blättern, nicht aber bei jungen gesprochen werden kann. Bei letzteren fanden Willstätter und Stoll eine Zunahme des Chlorophyllgehaltes in Prozenten, innerhalb 80 min: *Tilia cordata* 32%, *Acer negundo* 29%, *Quercus robur* 22%, *Aesculus hippocastanum* 18%, *Populus pyramidalis* 15%, *Acer pseudoplatanus* 10% und *Ampelopsis quinquefolia* 0%. Dieser Befund verdient festgehalten zu werden, da er in der Folgezeit nicht die nötige Beachtung fand, und Willstätter und Stoll immer als die Autoren galten, die nur die absolute Konstanz des Chlorophyllgehaltes schlechthin gelten ließen. Auch uns ist dies öfters widerfahren, obwohl sich mehrere unserer Arbeiten mit der Bildung des Chlorophylls in wachsenden Blättern beschäftigen (Seybold und Egle 1938, Egle 1944).

Auch Nagel (1940) stellte bei wachsenden Tabakblättern erhebliche Unterschiede im Chlorophyllgehalt fest. Die morphologisch ältere Blattspitze weist bei einer Blattlänge von 3—10 mm etwa das 2—3,6fache an Chlorophyll gegenüber der „jüngeren" Basis auf (Nagel, S. 33). Dieser und andere ähnliche Befunde zeigen deutlich, daß in wachsenden Blättern große Differenzen im Chlorophyllgehalt auftreten können, was aber beileibe mit „Chlorophyllschwankungen" nichts zu tun hat (s. S. 342).

Gänzlich abwegig ist daher die Bewertung des von Nagel mitgeteilten Befundes durch Bukatsch. Er findet es „recht auffallend", daß Nagel so erhebliche Chlorophyllschwankungen gefunden hat, während wir an der Konstanz des Chlorophyllgehaltes festhielten. Was Bukatsch bewog, hier einen Widerspruch zu konstruieren, ist unerfindlich. Ihn hätte gerade die Angabe Nagels dazu anhalten müssen, die große Variabilität des Chlorophyllgehaltes innerhalb eines und desselben Blattes besonders zu beachten.

Es ließen sich noch andere Autoren anführen, die bei wachsenden Blättern innerhalb kurzer Zeiträume deutliche CS festgestellt haben (Zahn 1952, Sironval 1952/53), hier sei nur noch auf A. Bauer (1958) hingewiesen, der einerseits bei noch nicht ausgewachsenen Blättern eine

deutliche Veränderung des Chlorophyllgehaltes im Laufe eines Tages feststellte und andererseits vermutet, daß mancher Autor kurzfristige CS eben deswegen fand, weil die Versuchsblätter sich noch im Wachstum befanden. Ob BUKATSCH, WENDEL, STEUER u. a. diese vermittelnde Deutung in Anspruch nehmen wollen, muß abgewartet werden.

MITRAKOS, BÜNNING und EBERHARDT (1957) ermittelten bei Keimlingen von *Perilla ocymoides* kurzfristige CS und meinten, daß ihre Befunde die Auffassung WENDELS bestätigen könnten[1]. Von den Schwankungen der beiden Chlorophyllkomponenten a und b zunächst abgesehen, weisen die Kotyledonen von *Perilla* im Verlauf einiger Tage eine *Abnahme* des Chlorophylls auf, wenn der Pigmentgehalt auf das Frisch- und Trockengewicht bezogen wird. Diese Bezugsgrößen sind aber bei Keimblättern wie bei Laubblättern wenig günstig. Wir haben keinen Grund, das Versuchsergebnis als solches zu bezweifeln, wir sind aber mit der Deutung nicht einverstanden. Frisch- und Trockengewicht können innerhalb kurzer Zeiträume solche Schwankungen aufweisen, wie der Chlorophyllgehalt „variiert", wenn ihm diese Bezugsgrößen zugrunde gelegt werden. Die „Rhythmik" kann aber auch dadurch zustande kommen, daß in den Kotyledonen kein steter Ablauf einer reellen oder scheinbaren Pigmentabnahme erfolgt. Ob man diese Erscheinung als endogene Rhythmik werten will oder nicht, kann hier nicht diskutiert werden. Wir haben vor Jahren (SEYBOLD und EGLE 1938, S. 92ff.) bei der *Ergrünung* etiolierter Keimpflanzen auch keine Stetigkeit in der Bildung von Chlorophyll a und b konstatiert, vielmehr traten gewisse Unregelmäßigkeiten auf: die Chlorophyllbildung erfolgte in Schüben. Wie kompliziert die Verhältnisse liegen, geht auch daraus hervor, daß bei erneuter Verdunklung ergrünender etiolierter Keimlinge die Bildung der Komponente a weitergeht, hingegen die von Chl.b nicht (Dunkeleffekt).

Von vornherein muß im Auge behalten werden, daß einer Veränderung im Chlorophyllgehalt bei wachsenden Blättern andere physiologische Vorgänge zugrunde liegen können als bei ausgewachsenen. Bei diesen ist der Chlorophyllgehalt in erster Linie mit der Photosynthese in Zusammenhang zu bringen, bei jenen aber auch noch mit den Entwicklungsvorgängen im Mesophyll und in den Plastiden. Man darf also eine Inkonstanz des Chlorophyllspiegels in wachsenden (und absterbenden) Blättern nicht mit fiktiven CS in ausgewachsenen, intakten Laubblättern ohne weiteres in Parallele setzen.

---

[1] *Anmerkung bei der Korrektur:* MITRAKOS [Planta **52**, 583 (1959)] weist jetzt selbst darauf hin, daß die Vorgänge der Chlorophyllbildung in *Keimpflanzen* kein Argument für die Inkonstanz des Chlorophyllgehaltes in *ausgewachsenen* Blättern liefern können.

Mehrere Versuchsreihen mit Keimpflanzen von *Lepidium sativum*, die wir in den letzten Monaten durchführten, ergaben, daß die Ergrünung nicht stetig erfolgt, sondern gewisse Fluktuationen im Chlorophyllgehalt auftreten. Varianzanalysen der Versuchsobjekte sind freilich in allen Fällen unerläßlich, um sicherzugehen, was als reelle Schwankung und was als Abweichung vom statistisch gesicherten Mittelwert zu gelten hat (s. S. 362). Die Mitteilung unserer Analysenbefunde soll zu gegebener Zeit erfolgen, da sie auf die Beantwortung unserer Streitfrage und das Thema dieser Abhandlung nur indirekten Bezug haben.

VI. Revision der Heidelberger Chlorophyllbestimmungen

Ein jeder Forscher ist bei quantitativen Messungen bestrebt, die Fehlerquellen seiner Methode zu ermitteln und bei der Variabilität seiner Versuchsobjekte zuverlässige Mittelwerte zu gewinnen. Wie er dabei zu verfahren hat, muß er von Fall zu Fall entscheiden. Leider spielt die „Tücke des Objektes" ihm oft einen Streich. Es gibt Fälle, daß einer, der nach bestem Wissen und Gewissen seine Ergebnisse erarbeitete, dennoch eine „fehlerhafte Zahl" in die Welt gesetzt hat. Ein Beispiel hierfür kann *Ulva lactuca* sein: Willstätter und Stoll (1913, S. 125), deren Analysendaten im wesentlichen richtig sind, geben für die genannte Meeresalge einen Chlorophyllquotienten a : b = 1,43 an, was mit unseren Messungen = 1,15—1,47 (Seybold und Egle 1937, S. 507) in Einklang stand. Später haben wir (1938, S. 507) aber den auffallend niederen Quotienten mit einwandfreiem Material „richtiggestellt" (a/b = 2,4). „Die niederen Werte von a/b, die wir in unserer Arbeit von 1937 von den grünen Meeresalgen mitteilten, sind also das Produkt einer unbeachteten, ungleich starken Veränderung der beiden Chlorophyllkomponenten." Die falschen Werte der ungewöhnlich niederen Chlorophyllquotienten von Meeresalgen (und von *Ulva* insbesondere) sind in die Literatur, ohne als fragwürdig zu erscheinen, eingegangen (z. B. Rabinowitsch 1945, S. 410, Gessner 1955, S. 51), während die Angabe der richtigen Werte zuweilen unterblieb. Da aus der Höhe des Quotienten gewisse physiologische und ökologische Schlüsse gezogen werden, kann es nicht gleichgültig sein, ob man den richtigen oder den falschen Wert verwendet, wenn einem auch der Unterschied (1,4 zu 2,4) belanglos erscheinen mag.

Die Sicherheit der „ermittelten Zahl" hängt nun nicht allein von dem Zustand des Analysenmaterials ab, sondern vor allem auch von der Genauigkeit der angewandten Methode. Auf diese „Binsenwahrheit" haben wir auch in dieser Mitteilung öfters hingewiesen, so daß wir uns hier auf einige Punkte beschränken können.

Quantitative Bestimmungen des Chlorophyllgehaltes setzen eine exakte Eichung des optischen Instrumentes, mit denen die Messungen

durchgeführt werden, voraus. Zur Eichung sind zuverlässige, feste Standardpräparate oder Standardlösungen (Chlorophyllpräparate in Lösung) notwendig. ZSCHEILE und COMAR (1944), SMITH und BENITEZ (1955) und FALK (1958) haben zuverlässige Präparate gewonnen, und neuzeitliche Spektralphotometer ermöglichen eine vorzügliche Bestimmung von Pigmentextrakten. Für viele Untersuchungen sind aber das altbewährte Pulfrichphotometer und ähnliche Instrumente völlig ausreichend; man soll nicht mit Kanonen nach Spatzen schießen! Von Fall zu Fall, je nach der vorliegenden Fragestellung, wird man die beiden Chlorophyllkomponenten chromatographisch trennen und gesondert photometrieren oder im Gesamtextrakt das Komponentenverhältnis ohne Trennung quantitativ bestimmen.

Wenn wir die einigermaßen vergleichbaren Analysendaten der Tabelle 5 und 6 kritisch betrachten, so können wir sagen, daß eine befriedigende Übereinstimmung zwischen unseren früher ermittelten und den in den letzten Jahren gewonnenen Werten besteht. Auch die von WILLSTÄTTER und STOLL gewonnenen Daten scheinen uns richtig. FALK (1958) hat bereits erwähnt, „daß für die von SEYBOLD aus der damals gefundenen Pigmentausstattung der verschiedenen Untersuchungsobjekte getroffenen prinzipiellen Schlußfolgerungen die Korrektur keine grundsätzliche Änderung einbringt". Wenn nach dem Stand unserer heutigen Kenntnisse die Korrektionsfaktoren für unsere Chl.a-Werte mit 0,7, die von Chl.b mit 0,9 und für den Quotienten $a/b = 0{,}8$ anzugeben sind[1], so ist die Anwendung nur im speziellen Fall nötig, im allgemeinen wirken sich aber, wie die Tabellen zeigen, die Korrekturen nicht wesentlich aus, da die Variabilität der Untersuchungsobjekte oft erheblich ist.

Es wäre nun freilich unsere Aufgabe, selbst alle bisher von uns mitgeteilten Analysendaten einer Revision zu unterziehen, eine nur in begrenztem Maße mögliche Aufgabe, die langwierig und undankbar ist. Wir können selbstredend das früher verwendete Blattmaterial nicht nochmals analysieren; die Variabilitätsbreiten müßten in jedem Fall festgelegt werden. Der erhebliche Aufwand an Zeit und Geduld würde sich kaum lohnen, so daß wir uns mit der Absicht tragen, bei weiteren Arbeiten, die aus unserem Institut veröffentlicht werden, auf auftretende größere, also wesentliche Unterschiede hinzuweisen. Auch die Daten,

[1] Weitere Vergleichsbestimmungen der chromatographischen Trennung von Chl a und b mit Anwendung des Pulfrich-Photometers einerseits und der direkten Bestimmung der beiden Komponenten im Gesamtextrakt mit dem *Unicam*-Spektrophotometer andererseits (s. S. 361) ergaben, daß den Korrektionsfaktoren nur eine Genauigkeit in der ersten Stelle hinter dem Komma zukommt, weil die Messungen mit dem Pulfrich-Photometer und die ihm zugrunde liegenden Eichkurven keine so große Genauigkeit zulassen, daß die zweite Kommastelle gesichert ist (s. S. 372).

Tabelle 5

		mg Chlorophyll in 10 g Frischgewicht			a/b
		a	b	a + b	
W. St., *Sambucus nigra* . .	So	16,2	5,9	22,1	2,8
	Sch	12,9	6,3	19,2	2,0
S. E., *Sambucus nigra* . . .	So	25,4	7,1	32,5	3,6
	Sch	23,1	8,8	31,9	2,6
B., *Sambucus nigra*	So	24,1	6,2	30,3	3,9
	Sch	19,7	9,3	29,0	2,6
W. St., *Aesculus hippoc.* . .	So	23,7	8,8	32,5	2,7
	Sch	19,6	8,6	26,2	2,3
S. E., *Aesculus hippoc.* . . .	So	39,3	8,1	47,4	4,8
	Sch	50,6	14,7	65,3	3,4
B., *Aesculus hippoc.*	So	16,4	3,9	20,3	4,2
	Sch	40,2	13,9	54,1	2,9
W. St., *Fagus silvatica* . . .	So	20,6	6,7	27,3	3,1
	Sch	27,7	9,6	37,3	2,9
S. E., *Fagus silvatica*	So	23,7	7,2	30,9	3,3
	Sch	23,2	9,4	32,6	2,5
B., *Fagus silvatica*	So	20,6	6,3	26,9	3,3
	Sch	31,4	11,6	43,0	2,8

W. St. Willstätter und Stoll (1913); S. E. Seybold und Egle (1938); B. Bauer (1957) (nicht veröffentlicht).

Tabelle 6

	mg Chlorophyll in 100 cm² Blattfläche			
	a	b	a + b	a/b
S. E. 1937, *Cornus mas var. aurea* gelb . . .	0,69	0,10	0,79	7,0
B. 1956, *Cornus mas var. aurea* gelb-grün . .	0,63	0,07	0,70	9,5
B. 1957, *Cornus mas var. aurea* gelb-grün . .	0,51	0,07	0,58	7,4
S. E. 1937, *Ulmus montana var. aurea* gelb .	0,57	0,08	0,64	7,3
B. 1956, *Ulmus montana var. aurea* gelb-grün	0,64	0,06	0,70	9,8
B. 1957, *Ulmus montana var. aurea* gelb-grün	0,53	0,07	0,60	7,5
S. E. 1937, *Corylus avellana var. aurea* gelb .	0,51	0,06	0,57	8,6
gelb .	0,67	0,06	0,73	10,6
S. W. 1942a (S. 268) *Corylus avellana var. aurea* gelb	0,80	0,05	0,85	16,0
S. W. 1942b (S. 120) *Corylus avellana var. aurea* gelb	1,00	0,10	1,10	10,0
B. 1957, *Corylus avellana var. aurea* gelb . .	0,51	0,06	0,57	8,8

S. E. Seybold und Egle (1937); S. W. Seybold und Weissweiler (1942a, b); B. Bauer (1956 und 1957). Die Zahlen sind abgerundet.

die andere Forscher zeitigen, werden als Prüfstein für bereits publizierte Werte dienen können, so daß die „*sichere Zahl*" mit den Fortschritten der Methode gewonnen wird.

Zusammenfassung

1. Aus der Literatur sind keine positiven Argumente für kurzfristige Chlorophyllschwankungen in ausgewachsenen Blättern zu entnehmen.

2. Vermeintliche kurzfristige Chlorophyllschwankungen in ausgewachsenen Blättern sind lediglich Ausdruck der intraindividuellen Variabilität des Analysenmaterials.

3. Versuche mit Isotopen, die einen ständigen Auf- und Abbau des Chlorophylls in Blättern erkennen lassen, können nicht ohne weiteres zur Frage der kurzfristigen Chlorophyllschwankungen herangezogen werden.

4. In jungen, wachsenden Blättern ist eine unstete Zunahme des Chlorophylls in kurzen Zeiträumen nachzuweisen.

5. Die bisherigen Heidelberger Chlorophyllbestimmungen bedürfen auf Grund der Verbesserung der Methode kleiner Korrekturen (s. S. 371). Wesentliche Änderungen der bisher gewonnenen Daten und Schlußfolgerungen sind nicht erforderlich.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir auch hier für die Überlassung eines *Unicam*-Spektralphotometers.

Literatur

Bauer, A.: Beiträge zur Pigmentphysiologie der Blätter von Aurea-Varietäten. Beitr. Biol. Pflanzen **32**, 403 (1956). — Die Konstanz des Chlorophyllgehaltes bei Laubblättern im Laufe eines Tages. Planta (Berl.) **51**, 84 (1958). — Boas, F.: Dynamische Botanik, 3. Aufl. München 1949. — Bode, O.: Über Zusammenhänge zwischen CO_2-Assimilation und Photoperiodismus bei *Kalanchoe blossfeldiana*. Planta (Berl.) **33**, 278 (1942/43). — Bukatsch, F.: Tagesschwankungen des Blattgrüngehaltes alpiner Pflanzen. Z. ges. Naturwiss. **5**, 263 (1939). — Tagesschwankungen des Blattgrüngehaltes alpiner Pflanzen. Z. ges. Naturwiss. **6**, 197 (1940). — Zur chromatographischen Bestimmungsmethode des Blattgrüngehaltes. Z. ges. Naturwiss. **8**, 79 (1942). — Über den Einfluß verschiedener mineralischer Ernährung auf den Blattpigmentgehalt und die Photosynthese junger Getreidepflanzen. Jb. wiss. Bot. **90**, 293 (1942a). — Egle, K.: Untersuchungen über die Resistenz der Plastidenfarbstoffe. Bot. Archiv **45**, 93 (1944). — Falk, H.: Ein Beitrag zur Methode der quantitativen Chlorophyllbestimmung. Planta (Berl.) **51**, 49 (1958). — Fischer, H., u. H. Orth: Die Chemie des Pyrrols, Bd. II, 2. Hälfte. Leipzig 1940. — Gessner, F.: Hydrobotanik, Bd. 1, S. 51. Berlin 1955. — Gjubbenet, E. R., u. N. V. Bazanova: Tagesperiodische Schwankungen im Chlorophyllgehalt der Kartoffelblätter. Dokl. Akad. Nauk SSSR. **105**, 586 (1955) [Russisch]. Ref. Ber. wiss. Biol. **105**, 48 (1956). — Godnev, T. N., and A. A. Shlyk: Internat. Conf. on the peaceful Uses of Atomic Energy, Vol. 12, p. 358. 1955. — Neues von der Biosynthese des Pflanzenchlorophylls. Priroda (Leningrad) **1955**, H. 5. Ref. Ber. wiss. Biol. **101**, 352 (1956). — Henrici, M.: Chlorophyllgehalt und Kohlensäure-Assimilation bei Alpen- und Ebenen-Pflanzen. Verh. naturforsch. Ges. Basel **30**, 43 (1919). — The chlorophyll-content of grasses in Bechuanaland. 11. and 12. reports veterin. educ. and research, Pt. 1, p. 257. 1926. — Jacobsen, C. A., u. L. Marchlewski: Über die Dualität des Chlorophylls und das

wechselnde Verhältnis seiner Komponenten. Biochem. Z. **39**, 174 (1912). — Kostytschew, S.: Lehrbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 1. Berlin 1926. — Kutjurin, V. M.: On the restitution of chlorophyllmolecules in plants. Dokl. Akad. Nauk SSSR. **106**, 355—357 (1956) [Russisch]. Ref. Ber. wiss. Biol. **105**, 48 (1956). — Mitrakos, K., E. Bünning u. F. Eberhardt: Endogen-tagesperiodische Schwankungen der Chloroplasten-Farbstoffe. Z. Naturforsch. **12b**, 813 (1957). — Montfort, C., u. I. Kress-Richter: Reversible photochemische Chlorophyllzerstörung in besonnten Laubblättern von Aureaformen und ihre Beziehungen zu Strahlungsklima und Erbgut. Planta (Berl.) **38**, 516 (1950). — Montfort, C., u. G. Zöllner: Beständigkeit und Zerstörung des Chlorophylls im Blatt. Bot. Archiv **43**, 393 (1942). — Nagel, W.: Über die Blattfarbstoffe des Tabaks. Bot. Archiv **40**, 1 (1940). — Noack, K.: Photosynthese. In Handwörterbuch der Naturwissenschaften, 2. Aufl., Bd. 7, S. 965. 1932. — Pantanelli, E.: Abhängigkeit der Sauerstoffausscheidung belichteter Pflanzen von äußeren Bedingungen. Jb. wiss. Bot. **39**, 167 (1903). — Rabinowitch, E.: Photosynthesis, Vol. 1. New York, N.Y. 1945. — Röbbelen, G.: Strahleninduzierte Blattfarbmutanten von *Arabidopsis thaliana*. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **88**, 189 (1957). — Roux, E., et Ch. Husson: Pigments des chloroplastes et photosynthèse. C.R. Acad. Sci. (Paris) **234**, 1573—1574 (1952). Ref. Ber. wiss. Biol. **81**, 277. — Pigments des chloroplastes et photosynthèse. C.R. Acad. Sci. (Paris) **235**, 1154—1155 (1952). Ref. Ber. wiss. Biol. **86**, 174. — Seybold, A.: Weist der Chlorophyllgehalt der Blätter Tagesschwankungen auf? Bot. Archiv **43**, 71 (1942). — Chromatographie der Blattfarbstoffe. Planta (Berl.) **38**, 601 (1950). — Hat die Chloroplastenverlagerung in Laubblättern eine Bedeutung? Naturwiss. **43**, 90 (1956). — Seybold, A., u. K. Egle: Lichtfeld und Blattfarbstoffe. I. und II. Planta (Berl.) **26**, 491 (1937); **28**, 87 (1938). — Zur chromatographischen Methode der Blattpigmente. Planta (Berl.) **29**, 114 (1939). — Seybold, A., u. A. Weissweiler: Spektrophotometrische Messungen an grünen Pflanzen und Chlorophyll-Lösungen. Bot. Archiv **43**, 252 (1942). — Weitere spektrophotometrische Messungen an Laubblättern und an Chlorophyll-Lösungen sowie an Meeresalgen. Bot. Archiv **44**, 102 (1942). — Sironval, C.: A propos du métabolisme de la chlorophylle dans la feuille. Bull. Soc. roy. bot. Belg. **85**, 285 (1953). — Arch. Inst. Bot. Univ. Liège **22** (1952/53). — Smith, J. H. C., and A. Benitez: Chlorophylls, Analysis in plant materials. In K. Paech u. M. V. Tracey, Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Ed. IV. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — Stahl, E.: Zur Biologie des Chlorophylls. Jena 1909. — Steuer, I.: Tagesperiodische Veränderlichkeit des Chlorophyllgehaltes grüner Blätter. Diss. München 1945. — Stocker, O.: Referat der Arbeit Seybold u. Egle, Lichtfeld und Blattfarbstoffe. II. [Planta (Berl.) **28** (1938)]. Z. Bot. **34**, 187 (1939). — Strott, A.: Der Einfluß der Umweltbedingungen auf die Ausbildung der Chloroplastenfarbstoffe. Jb. wiss. Bot. **86**, 1 (1938). Referat von Seybold in Z. Bot. **33**, 229 (1939). — Tswett, M.: Adsorptionsanalyse und chromatographische Methode. Ber. dtsch. bot. Ges. **24**, 384 (1906). — Über die Spektrophotometrie der Chlorophylline und die Energetik des Chlorophylls. Ber. dtsch. bot. Ges. **25**, 388 (1907). — Wager, H.: The action of light on chlorophyll. Proc. roy. Soc. B **87**, 386 (1914). — Walter, H.: Grasland, Savanne und Busch der ariden Teile Afrikas in ihrer ökologischen Bedingtheit. Jb. wiss. Bot. **87**, 750 (1939). — Wendel, K.: Über die Veränderlichkeit des Chlorophyllgehaltes einiger Pflanzen im Ablauf eines Tages. Diss. München 1942. — Beiträge zur photometrischen Messung von Chlorophyll-Lösungen. Planta (Berl.) **36**, 71 (1949). — Beiträge zur chromatographischen Analyse von Chlorophyll-Lösungen und deren kolorimetrischen und photometrischen Messung. Planta

(Berl.) **37**, 604 (1949/50). — Chromatographie der Blattfarbstoffe. Planta (Berl.) **38**, 603 (1950/51). — Über die Veränderlichkeit des Chlorophyllgehaltes einiger Pflanzen im Ablauf eines Tages. Protoplasma **48**, 382 (1957). — WIECKOWSKI, S.: Studies on the diurnal fluctuations of chlorophyll concentration in leaves of plants from montane and lowland habitats. Acta Soc. Bot. Poloniae **26**, 657 (1957). — WIESNER, J.: Der Lichtgenuß der Pflanzen. Leipzig 1907. — WILLSTÄTTER, R., u. A. STOLL: Untersuchungen über Chlorophyll. Berlin 1913. — Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin 1918. — WLODEK, J.: Recherches sur l'influence des engrais chimiques sur le coefficient chlorophyllien. Bull. Acad. Polon. Sci. et Lettres Cl. math. et nat., Sér. B,p. 19, Krakau 1920. — Recherches sur l'influence de la lumière et des engrais chimiques sur le coefficient chlorophyllien. Bull. Acad. Polon. Sci. et Lettres Cl. math. et nat., Sér. B, p. 143, Krakau 1921. — ZAHN, R.: Lichtökologische Untersuchungen der Chloroplastenfarbstoffe photostabiler und photolabiler Pflanzen. Diss. Frankfurt 1952. — ZELLER, A.: Untersuchungen über Chlorophyllgehalt, Trockengewicht und Aschengehalt in Abhängigkeit von Seehöhe und Jahreszeit. Beih. bot. Zbl. **53** (Abt. A), 19 (1935). — ZSCHEILE, F. P., and C. L. COMAR: Influence of preparative procedure on the purity of chlorophyll components as shown by absorption spectra. Bot. Gaz. **102**, 463 (1941).

Prof. Dr. A. SEYBOLD,
Botanisches Institut der Universität, Heidelberg, Hofmeisterweg 4

Planta 53, 376—401 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität München

ZUR KENNTNIS DER GEISSELN UND DER CHEMOTAXIS VON CHLAMYDOMONAS EUGAMETOS MOEWUS (CHL. MOEWUSII GERLOFF)*

Von

MALVINE HAGEN-SEYFFERTH

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 27. Februar 1959)

Die Arbeit von F. MOEWUS „Über die Chemotaxis von Algengameten" (1939) enthält, bei einer wenig zweckmäßigen Versuchsanordnung, so viele unwahrscheinliche Angaben, daß Herr Prof. Renner nach ihrem Erscheinen seinen damaligen Assistenten Helmut Döring veranlaßte, einige dieser Befunde nachzuprüfen. Da Dr. Döring in Rußland fiel, ohne mehr als einige Vorversuche gemacht zu haben, stellte Herr Prof. Renner später mir die gleiche Aufgabe (1951). Die meisten Versuche wurden, mit langen Unterbrechungen, in München-Nymphenburg ausgeführt, ein Teil der Experimente nach meiner Verheiratung im Heiligenberg-Institut (Heiligenberg/Baden).

Herrn Prof. RENNER danke ich für die Leitung der Arbeit, Herrn Prof. LANGENDORFF für einen Arbeitsplatz in Heiligenberg.

Das Material

MOEWUS hat seine Chemotaxisversuche mit *Chlamydomonas eugametos* f. *simplex* MOEWUS ausgeführt. Unser Ausgangsmaterial waren eine männliche und eine weibliche Agarkultur von *Chl. eugametos*, die Herr Prof. RENNER vom Max Planck-Institut für Medizinische Forschung in Heidelberg im Frühjahr 1951 erhielt. Die beiden Klone entsprechen insofern der f. *simplex* MOEWUS, als auf Agar gewachsene Zellen in destilliertem Wasser ohne Nährsalzzufuhr beweglich werden, der f. *typica* darin, daß schon die kleinsten Geißelstümpfe lebhaft beweglich sind. Alle Schwärmer besitzen am Scheitel eine stumpfe Papille. Streng genommen müßte deswegen die von uns verwendete Form *Chl. Moewusii* GERLOFF heißen (vgl. CZURDA 1935, S. 141; GERLOFF 1940, S. 463). — Der von LEWIN als *Chl. Moewusii* GERLOFF verwendete Stamm wurde in Amerika isoliert und bestimmt.

Die Dimensionen des Zellkörpers erscheinen recht variabel, wenn man die Werte von Kulturen verschiedenen Alters zusammenwirft. MOEWUS hat wohl an ausgewählten Stadien gemessen.

* Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität München.

Maße von *Chlamydomonas Moewusii*

	Länge	Breite
Moewus (1931):	12 —16 μ	8 —10 μ
Czurda (1935):	7 —15 μ	4 — 8 μ
Gerloff (1940):	9 —15 μ	5,4 — 7,5 μ
Eigene Messungen:	8,5—14,5 μ	4,0 — 9,5 μ
im Mittel ($n = 30$)	11,1 $\pm$ 0,30 μ	6,80 $\pm$ 0,27 μ

Die Kultur

Als Nährboden diente 2%iger Agar (von Pringsheim u. Mainx 1926, S. 596 empfohlen) mit 0,1%iger Knoplösung. Die Kulturen wurden bei Zimmertemperatur an einem Nordfenster aufgestellt. In den Wintermonaten erhielten sie täglich für 8 Std Licht einer weißen Neonröhre (Philips TL 40 W, Warmton, etwa 6000 Lux).

Alle von diesen Agarkulturen hergestellten Zellsuspensionen, in Knoplösung wie in destilliertem Wasser, erwiesen sich als mit dem anderen Geschlecht kopulierende Gameten.

Als flüssiges Medium wurden destilliertes Wasser, 0,05%ige Knoplösung und Erdauszug verwendet. Nach Pringsheim (1951) wird eine Erdlösung am besten in Reagensgläsern hergestellt, in der Weise, daß man eine 2—3 cm hohe Erdschicht (aus gesiebter gut humifizierter Gartenerde) mit einer ca. 5 cm hohen Wasserschicht (destilliertes Wasser oder Quellwasser) bedeckt und das Ganze sterilisiert. Ich erhitzte die mit wenig Wasser durchfeuchtete Erde bis zur Sterilisation und gab dann erst steriles destilliertes Wasser zu; auf diese Weise wird eine weniger dunkle Flüssigkeit gewonnen. Die Bodenschicht bleibt während der Kultur der Algen in der Erdlösung als Nährstoffreserve im Kulturgefäß.

A. Die Geißeln

I. Begeißelte und unbegeißelte Zellen

Nach Moewus haben auf 1,5%igem Agar gewachsene Zellen keine Geißeln (1938, S. 755, 757; 1939, S. 486). Meine Erfahrung ist, daß auch auf 2%igem Agar die Zellen teilweise begeißelt sind, und Förster u. Wiese fanden auf 1,5%igem Agar 0—90%, meist um 5% der Zellen begeißelt (1954, S. 470). Mit Sicherheit erhält man unbegeißelte Zellen, wenn man, wie Moewus (1939, S. 491) empfiehlt, 5%igen Agar verwendet, der in Petrischalen ausgegossen und durch 2—4 Wochen langes Warmstellen etwas ausgetrocknet ist. Beimpft werden diese Platten durch Ausgießen einer Algensuspension in steriler aqua dest., deren Flüssigkeit in einigen Stunden vom Agar aufgenommen wird. Geschieht das Impfen mit einem Spatel, so kommen die Zellen so dicht zu liegen, daß die zwischen ihnen sich haltende Feuchtigkeit für ein gewisses Geißelwachstum ausreicht.

Nach Übertragung in Wasser sollen geißellose Zellen unter der künstlichen Sonne (150 Watt-Lampe) in etwa 3 min die Geißeln entwickeln, und nach weiteren 2 min im Licht sollen die Geißeln beweglich werden (Moewus 1938, S. 755). Nach meinen Erfahrungen dauert es

bei 18—22° C im Tageslicht 30—60 min, im Durchschnitt 45 min, bis die Zellen voll beweglich sind, und FÖRSTER u. WIESE (1954, S. 470) fanden in der Regel eine halbe Stunde. Aber schon die kürzesten, gerade über die Zelloberfläche herausragenden Geißelstümpfe schlagen lebhaft hin und her.

MOEWUS verwendet als Lichtquelle einmal (1938, S. 757) eine 150 Watt-Lampe, bei Belichtung am Mikroskop (p. 758) eine Zeisssche Punktlichtlampe. Es ist nicht anzunehmen, daß in beiden Fällen die gleiche Lichtstärke auf die Zellen einwirkte. Die Geschwindigkeit des Geißelwachstums ist bei beiden Versuchsanordnungen gleich groß.

Es erscheint unwahrscheinlich, daß der Unterschied in der Lichtintensität zwischen der Versuchsanordnung bei MOEWUS und der eigenen Methodik (diffuses Tageslicht oder das Licht einer 60 Watt-Lampe) die bedeutend größere Wachstumsgeschwindigkeit, die MOEWUS mißt, veranlaßt.

Einen deutlichen Einfluß der Lichtstärke auf die Wachstumsgeschwindigkeit der Geißeln findet LEWIN (1953, S. 1091—1093) für seine *Chl. Moewusii* bei der Zunahme der Geißellänge von Agarzellen. Ein bestimmtes Wachstum benötigt 20 min bei einer Beleuchtung von 500 foot-candles, und 2 Std bei 5—10 foot-candles. Dabei ist zu berücksichtigen, daß Geißelwachstum auf Agar ohne Wasserzufuhr im Dunkeln überhaupt ausbleibt.

Die Geißellänge. Nach GERLOFF (1940, S. 331) besitzt die Peitschengeißel von *Chlamydomonas* über einem derben Stiel ein sehr feines Endstück, das GERLOFF nicht lebend im Dunkelfeld, sondern nur nach Färbung beobachten konnte. Es ist mir nicht gelungen das Peitschenende durch Färbung nach LÖFFLER sichtbar zu machen. Angaben über die Länge der Geißeln beziehen sich also auf das im Hellfeld bei genügender Vergrößerung (gewöhnlich wurde 700fache verwendet) sichtbare Stück.

MOEWUS (1931, 1933a, 1938) gibt an, die beiden Geißeln von *Chl. eugametos* seien stets so lang wie der — etwa 10 μ lange — Körper. GERLOFF (S. 321/22) findet die Geißeln bei *Chl. Moewusii* 1—$1^1/_2$mal körperlang. Bei meinem Material war der Durchschnitt von 122 Messungen 1,3mal körperlang, und zwar in destilliertem Wasser ebenso wie in 0,05% Knoplösung und in Erdlösung. Die längsten Geißeln, durchschnittlich 1,5mal, maximal 1,8mal körperlang, fanden sich in einer 3 Monate alten Erdlösung-Kultur.

Einziehen und Abwerfen der Geißeln. FISCHER (1894, S. 205—230) meint, die Geißeln der Flagellaten würden immer abgeworfen, wenn sie verschwinden.

Aber nach der Aussäung begeißelter Zellen auf 5%igen Agar nimmt die Zahl der Zellen mit langen Geißeln ständig ab, von 93% vor dem Versuch auf 62% nach 15 min, 50% nach 30 min, 14% nach 45 min. Gleichzeitig nehmen die kurzen Geißeln (gewertet als $^3/_4$, $^2/_3$, $^1/_2$, $^1/_3$, $^1/_4$ körperlang) stetig zu.

Danach ist kaum zu bezweifeln, daß die Substanz der Geißeln auf dem festen Substrat in den Zellkörper aufgenommen wird. LEWIN (1953a, S. 1091) findet Verkürzung der Geißeln bei *Chl. Moewusii* inner-

halb einer Woche an dunkel gehaltenen Agarzellen. Die Angabe von Moewus, daß die Geißeln im Dunkeln auch im flüssigen Substrat sogar schon nach 15—18 min eingezogen werden, konnte ich, wie auch S. 380 angeführt, nicht bestätigen.

Mehrmaliges Geißelwachstum. Für *Chl. Moewusii* beschreibt Lewin (1953a, S. 1091—1093) ein erneutes Geißelwachstum an Zellen, die auf Agar im Dunkeln ihre Geißeln stark verkürzt hatten, sobald sie belichtet oder in destilliertes Wasser gegeben wurden. Ich fand normale Neubildung der Geißeln an Zellen, die ihre Geißeln durch kurze Einwirkung hoher Temperaturen oder von saurem Phosphatpuffer oder von 0,5 bis 0,05% Essigsäure verloren hatten. Sogar eine dritte Geißelbildung konnte an denselben Zellen erzielt werden.

II. Die Bedingungen der Geißelbildung in Flüssigkeit

1. Licht. Nach Moewus bedürfen geißellose Agarzellen von *Chl. eugametos* in reinem Wasser des Lichtes, um Geißeln zu bilden. Im Dunkeln soll die Geißelbildung durch verschiedene Zucker und durch Crocin ausgelöst werden (Moewus 1933b, 1938, 1939). Dabei sollen die Zucker nur bei Anwesenheit von Sauerstoff wirken, das Crocin dagegen auch unter anaeroben Bedingungen (Moewus 1938, S. 755; 1939, S. 488). Wie die anaeroben Bedingungen hergestellt werden, ist 1939, S. 487, mitgeteilt. Unter den Methoden findet sich auch Überschichten der im Reagensglas befindlichen Suspension mit Paraffinöl. Daß auf diese Weise der Sauerstoff nicht ausgeschaltet wird, liegt auf der Hand; die Geißelbildung soll sich ja im Laufe weniger Minuten vollziehen.

Herr Prof. Renner teilt mir dazu mit: Das Manuskript der 1939 veröffentlichten Abhandlung enthielt noch nichts über die Art und Weise anaerober Behandlung. Erst auf briefliche Anfrage stellte Moewus die Methoden dar, die S. 487 publiziert sind, und den brieflichen Einwand, daß Überschichten mit Paraffinöl den erwarteten Dienst nicht tun könne, hat der Autor ignoriert.

Aber alles, was Moewus von der Rolle des Lichtes und der Zucker behauptet, ist unrichtig. Wie Herr Prof. Renner mich wissen läßt, hat Dr. Döring schon im Winter 1939/1940 in Jena festgestellt, daß unbegeißelte Zellen weder auf Licht noch auf Zucker angewiesen sind, um Geißeln zu entwickeln. Ich kann das bestätigen, Herr Prof. Renner hat sich in eigenen Versuchen davon überzeugt, und Förster und Wiese haben die gleiche Erfahrung veröffentlicht (1954, S. 470).

Auch die Geschwindigkeit des Geißelwachstums ist im Dunkeln keine andere als im Licht, wie an fixierten Proben (vergl. unten) ermittelt wurde.

Beweglichkeit im Dunkeln. Nach Moewus sollen im Licht beweglich gewordene Zellen, wenn sie ins Dunkle gebracht werden, die Bewegung einstellen, und zwar um so rascher, je kürzer sie belichtet waren (1938,

S. 758f.); nach 5 min Belichtung soll es im Mittel 1 min 3 sec dauern (man beachte die genaue Zeitangabe), nach 30 min Belichtung $5^1/_2$ min; nach 3, 4, 12 Std Belichtung etwa 60 min. In allen Fällen sollen nach weiteren 16—18 min die Geißeln eingezogen werden. Das alles ist nicht wahr. Die Zellen werden im Dunkeln im Lauf von Tagen nicht unbeweglich — das bestätigen auch FÖRSTER u. WIESE (1954, S. 470) —, noch weniger ziehen sie die Geißeln ein. Bei niederen Temperaturen (3—8° C) waren im dunklen Thermostaten noch nach 10—14 Tagen freibewegliche Zellen mit voll ausgebildeten Geißeln vorhanden.

Dunkelstarre fand BOLTE (1920, S. 289, 300—322) bei *Chl. variabilis*, wenn die Schwärmer in Uhrschälchen, nicht im Kulturzylinder dunkel gestellt wurden, nach 2—3 Std Aufenthalt ohne Licht, aber die Geißeln blieben erhalten und wurden bei Belichtung nach 5—10 min wieder voll beweglich. Schwärmer von *Chl. eugametos* dagegen setzen sich in sehr hellem Licht, z. B. bei starker Beleuchtung am Mikroskop von unten her, bald fest. Das entspricht der Beobachtung von FRANK (1904, S. 163/64) an *Chl. tingens*, daß die Schwärmer am Tropfenrand um so schneller zur Ruhe kommen, je größer die Lichtintensität ist.

2. Glucose. 0,5—10%ige Glucoselösungen sollen nach MOEWUS (1938 S. 761) die Zellen rascher beweglich machen als Lösungen von 0,1 bis 0,01% (in 25 gegen 70 min). LEWIN (1953, S. 1092) findet im Gegensatz dazu, allerdings an seiner *Chl. Moewusii*, daß in 10% Glucose die Zellen über 1 Std lang plasmolysiert sind und noch nach 90 min kein Geißelwachstum erfolgt; erst von 5% Glucose an soll sich das Verhalten dem im Wasser nähern. Meine Erfahrungen passen mehr zu denen von LEWIN als zu denen von MOEWUS. In 10% Glucose (etwa 0,5 mol) werden die geißellosen Zellen zunächst plasmolysiert, erholen sich aber und zeigen nach 24 Std normale Geißeln. Werden begeißelte Schwärmer in 10% Glucose gebracht, so tritt zunächst Plasmolyse und Unbeweglichwerden der Zellen ein (für mindestens 30 min); es ist die Erscheinung, die FISCHER (1894, S. 222/23) allgemein für verschiedene Flagellaten wie *Chlamydomonas*, und in einer späteren Arbeit (1895, S. 76) auch für Bakterien beschreibt und hier als „Trockenstarre" bezeichnet. Nach 24 Std waren 50% der Zellen wieder mit normalen Geißeln freibeweglich.

„Das Beweglichwerden im Dunkeln mit Sauerstoff" ist 1938, S. 760, in einer Überschrift betont, auch 1939 (S. 486) ist vom Beweglichwerden die Rede. Später berichtet MOEWUS (1943, S. 420), daß Glucose wohl die Geißelbildung im Dunkeln hervorruft, aber nicht das Beweglichwerden. Worauf der Widerspruch gegen die früheren Angaben beruht, wird soviel ich finde nicht erörtert.

Die Experimente von MOEWUS über die Wirkung des Crocins auf unbegeißelte Dunkelzellen (1939, S. 480ff.) hat RENNER (1958) behandelt; eigene Erfahrungen mit Crocin haben wir nicht.

3. Salzlösungen. Weder in 0,05% Knop-Lösung noch in Volvoxlösung nach MOEWUS (1937, S. 64) konnte eine Beschleunigung des Geißelwachstums erreicht werden. Es ließ sich eher eine schwache

Verlangsamung des Wachstums und eine zahlenmäßig geringere Begeißelung feststellen. Weiterhin wurde nur noch ein einzelnes Salz geprüft, nämlich KNO_3. In einer Konzentration von 0,1% verlief das Wachstum wie in der Kontrolle, ebenso bei 0,2%. Bei 0,4% verzögerte es sich, und bei 1% wirkte KNO_3 schädigend. Wie auch Förster u. Wiese (1954a, S. 470) fanden, geht die Geißelbildung von *Chl. eugametos* am besten in aqua dest. vor sich.

4. p_H-Werte. Im allgemeinen wurden Phosphatpuffer nach Strugger (1937, S. 254f.) verwendet, für die Bereiche p_H 2,0—11,1, im basischen Bereich, für p_H 9,2—10,7, auch Carbonat-Bicarbonat-Puffer nach Delory u. King (1951, S. 146). Die Messung des p_H-Wertes geschah mit der Glaselektrode, und bevor diese zur Verfügung stand mit der Chinhydronelektrode. Die Temperatur betrug 20 ± 2^0 C. Es wurde jeweils ein Reagensglas mit 5 ml Pufferlösung beschickt, ein zweites als Kontrolle mit destilliertem Wasser; annähernd neutrale Puffer mit p_H 6—7 gaben keine anderen Resultate als das destillierte Wasser. Die Dichte der Zellsuspensionen wurde für diese Versuche so gering gehalten, daß kein grüner Schimmer mehr sichtbar war, weil bei höherer Zelldichte im Bereich von p_H 10,1—10,7 die Zahl der beweglichen Zellen, im Vergleich zu Kontrollen mit geringer Zelldichte, am zweiten Tag merklich größer wurde und als Ursache eine Verschiebung des p_H-Werts um 0,3—0,5 Stufen gegen den saueren Bereich erkannt wurde.

Im basischen Bereich waren p_H-Werte von 7,6—7,8 ohne Einfluß auf das Geißelwachstum. Bei p_H 8,2—8,7 war das Wachstum etwas verlangsamt, bei p_H 8,7—9,8 noch mehr, auch die Zahl der begeißelten Zellen verringert. Bei 10,0—11,1 wurden fast keine Geißeln mehr gebildet; vereinzelte Geißeln wuchsen noch bei p_H 10,3. Geißelstümpfe von $^1/_2$-Körperlänge wuchsen zur normalen Länge weiter in p_H 9,8, bei p_H 10,0 und 10,3 nur noch wenige. Bei p_H 10,5 wurden die Geißelstümpfe abgeworfen. Voll ausgebildete Geißeln wurden von p_H 10,1 an in ihrer Beweglichkeit beeinträchtigt. Aber einzelne bewegliche Zellen finden sich am 2. Tag noch bei p_H 10,5.

Im sauren Bereich ist das Geißelwachstum bei p_H 5,8 normal, bei p_H 5,6—5,2 deutlich verzögert, bei p_H 5,0 kam nur die Hälfte der Zellen zur Geißelbildung, bei 4,6—3,8 fast keine Zellen mehr. Voll ausgebildete Geißeln wurden im Lauf einiger Stunden vermindert in p_H 5,7—5,2. Bei p_H 4,7—4,5 verlieren die Zellen in den ersten 10 min die Geißeln, bei p_H 3,7 geschieht das schon in der ersten Minute.

Moewus, der andere Puffergemische verwendet hat, gibt ähnliche Werte an: die Zellen werden beweglich zwischen p_H 4,5 und 9 (1933b, S. 475).

Schädigung der Chloroplasten beginnt im basischen Bereich bei p_H 10,1, im sauren bei p_H 5,0.

5. Temperatur. Genauer wurde die Geschwindigkeit des Geißelwachstums bei verschiedener Temperatur verfolgt. Es wurden Proben der in Wasser suspendierten Zellen in Abständen von 2—3 min, später

von 10—30 min mit Osmiumsäuredämpfen fixiert. Zur Fixierung größerer Mengen wurde Jodjodkalium (nach ROMEIS 1948, S. 73) verwendet (Zugabe von 0,01% JJK reicht aus), aber dabei erschienen die Geißeln oft wellig oder an den Enden eingerollt, so daß Messung kaum möglich war. Die Beobachtung erfolgte bei 700facher Vergrößerung.

MOEWUS will in Hunderten von Versuchen die Geißeln dadurch fixiert haben, daß er der Suspension das gleiche Volumen absoluten Alkohols zusetzte (1939, S. 492). Ich finde, daß bei dieser Behandlung, unter Schrumpfung des Protoplasten, die allermeisten Geißeln abgeworfen werden, ebenso wenn begeißelte Agarzellen in 50%igen Alkohol eingetragen wurden. 60-, 70-, 80-, 96%iger Alkohol wirkt nicht anders, ebenso 24- und 10%iger, 50%igem Alkohol müssen mindestens 4% Jodjodkalium zugesetzt werden, wenn die Geißeln fixiert werden sollen. In 4,8 und 2,4% Alkohol bleiben die Schwärmer mindestens in den ersten Stunden gut beweglich.

Es wurden zu den Versuchen nur Kulturen verwendet, die noch durchaus die längliche und schlanke Form der Schwärmer aufwiesen, in denen diese also noch nicht angefangen hatten sich abzurunden. Aber auch wenn die Kultur recht einheitliche Zellformen zeigt, beginnen nicht alle Individuen gleichzeitig mit der Geißelbildung.

In den Versuchen wurde vor allem die Zeit bestimmt, die bis zur Entstehung körperlanger Geißeln nötig war. Auch $^1/_4$-, $^1/_3$-, $^1/_2$- und $^3/_4$-körperlang wurde in den meisten Fällen protokolliert. Die Schätzung geschah nach dem Augenmaß an Zellen von mittlerer Größe; sehr kleine Schwärmer haben oft im Verhältnis zum Zellkörper recht lange Geißeln. Als „Ansätze" wurden Geißellängen notiert, die unter $^1/_4$-körperlang lagen. Für den Vergleich der Werte verschiedener Versuche wurde der Wert des schnellsten Wachstums gewählt, falls er nicht eindeutig ein Maximum ganz weniger Zellen darstellte. Die Untersuchungen bei Zimmertemperatur, d. h. bei 17,5 bis 22° C, wurden ohne Thermostaten im Tageslicht ausgeführt. Für höhere und niedrigere Temperaturen wurden die Reagensgläser mit den Algen in 500 cm³-Erlenmeyerkolben eingetaucht, in denen das Wasser auf den gewünschten Wärmegrad gebracht war.

Tabelle 1. *Geißelwachstum und Temperatur*

Temperatur in °C	Zeit für Körperlänge	*n*	Zeit für $^1/_2$-Körperlänge	*n*
2—4	$8^1/_2$ Std	2	365 min	2
5—7	5 Std	1	132 min	5
8—10	4 Std	1	97 min	3
11—13	2 Std	2	63 min	3
14—16	70 min	3		
17,5—19,5	49 min	19		
20—22	43 min	24		
23—25	35 min	7		
26—28	32,5 min	4		
29—31	31 min	5		
32—34	32,5 min	4		
35—37	42 min	6		

Die Tabelle zeigt die Mittelwerte der Zeitspannen, die für die Bildung körperlanger Geißeln bei Temperaturen zwischen 2 und 37° benötigt werden, und für den Bereich von 2—13° noch die Werte für die Erreichung der halben Körperlänge; *n* ist die Zahl der Versuche.

Die Geschwindigkeit des Geißelwachstums in Abhängigkeit von der Temperatur, im Bereich von $+2^0$ bis $+37^0$ C, stellt die Abb. 1 dar. Die Kurve der Geschwindigkeit steigt von 2—12° allmählich an, von da stärker bis zum Optimum bei 30 ± 2^0, und fällt dann rasch bis 37°.

Der Temperaturquotient wurde berechnet

bei	2—12°	6—16°	12—22°	16—26°	20—30°	22—32°	26—36°
Q_{10}	—	3,5	2,5	2,2	1,4	1,3	0,7

Bei diesen Berechnungen wurde die durchschnittliche Wachstumsgeschwindigkeit vom Beginn der Geißelbildung bis zur Erreichung der Körperlänge ins Auge gefaßt.

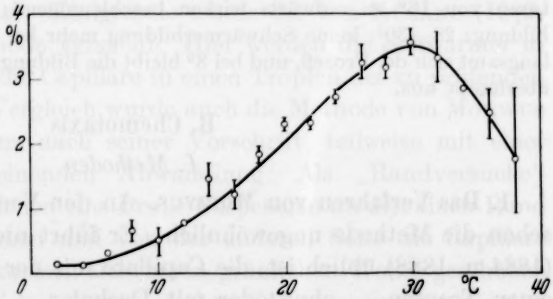

Abb. 1. Wachstum der Geißeln, ausgedrückt in % der Körperlänge pro Minute. Gesamtzahl der Versuche $n = 85$

Da aus nahezu allen Versuchsprotokollen auch die Zeitspanne bis zur Erreichung von $^1/_4$, $^1/_2$ und $^3/_4$ der Körperlänge zu entnehmen ist, können die Wachstumsgeschwindigkeiten für die einzelnen Abschnitte der Geißel berechnet werden. Wie Tabelle 2 zeigt, nimmt die Wachstumsgeschwindigkeit mit der Zeit etwas zu, denn für die Erzeugung des ersten Viertels wird ungefähr ein Drittel der Gesamtzeit benötigt, für die Bildung der ersten Hälfte 60%. Eine große Periode des Wachstums ist nicht vorhanden, es ist also zu vermuten, daß der Zuwachs vorzugsweise von der Basis her stattfindet, sich nicht über die ganze Länge der Geißel verteilt. Das Ausklingen des Wachstums wurde nicht verfolgt.

Tabelle 2. *Vergleich der Durchschnittswerte für das Wachstum in den einzelnen Bereichen innerhalb der körperlangen Geißel*
(In % der Gesamtwachstumszeit von körperlangen Geißeln angegeben.)

Temperaturbereiche ° C	Bis zu $^1/_4$ kl %	Von $^1/_4$—$^1/_2$ kl %	Bis $^1/_2$ kl %	Von $^1/_2$ bis kl %
2—6	36,6	28,6	65,2	34,8
12—16	30,4	32,8	63,2	36,8
17,5—19,5	31,5	28,3	59,8	40,2
20—20	32,7	26,9	58,6	41,4
23—31	31,3	22,3	53,6	46,4
31—37	37,0	24,4	61,4	38,6
	33,2	27,2	60,4	39,6
			~60	~40 { $^1/_2$—$^3/_4$ kl 20% / $^3/_4$ kl—kl 20%

Die Durchschnittswerte für das Wachstum von $^1/_2$—$^3/_4$ kl und $^3/_4$ kl—kl wurden nicht berechnet. Die Länge „$^3/_4$ kl" ist schwer zu schätzen; die Strecke wurde wahrscheinlich öfter zu lang geschätzt.

MOEWUS gibt für die untere Grenze des Beweglichwerdens $+4^0$ an (1939, S. 469), als obere 36^0 (l. c. S. 475). Hier können wir ihm zustimmen. Bei 37,5—38,5° fand ich ein Abnehmen der Beweglichkeit und der Begeißelung schon in den ersten 15 min, und nach 60 min waren die Zellen unbegeißelt. Aber für kurze Zeit wurden auch 40^0 vertragen: aus Zimmertemperatur in höhere Temperaturen gebracht, erwiesen sich nach 1 min Einwirkung von 40^0 noch 70—80% der Zellen beweglich, nach 3 min 50%, nach 50 min $< 10\%$.

FRANK (1904, S. 171) findet einen Einfluß der Temperatur auf die *Schwärmerbildung* von *Chl. tingens*, der gut mit diesen Ergebnissen parallel geht: Temperaturen von 16^0 an aufwärts wirken beschleunigend; Optimum der Schwärmerbildung: 28—30°; keine Schwärmerbildung mehr bei 35^0; unterhalb von 16^0 verlangsamt sich der Prozeß, und bei 3^0 bleibt die Bildung von beweglichen Individuen überhaupt aus.

B. Chemotaxis

I. Methoden

1. Das Verfahren von MOEWUS. An den Versuchen von MOEWUS ist schon die Methode ungewöhnlich. Er führt nicht, wie es seit PFEFFER (1884 u. 1888) üblich ist, die Capillare mit der zu prüfenden Lösung in einen Tropfen — ohne oder mit Deckglas — ein, der die Schwärmer enthält. Sondern er bringt eine „stets gleiche Menge Kulturlösung (geeichte Kapillarpipette)" in die Mulde eines hohlgeschliffenen Objektträgers, setzt die Capillarenmündung an den linken Rand des Tropfens, und „bringt unmittelbar darauf eine bestimmte Algenmenge an die rechte Randzone" (S. 499). Wie groß die Strecke ist, die die Algen zu durchschwimmen haben, wird nicht gesagt, nur daß der Tropfen „stets gleich groß" war (S. 514). Auch wie groß die zugeführte Algenmenge war, erfahren wir nicht. Es heißt nur, daß die Suspension, aus der „eine bestimmte Menge" entnommen wurde, etwa 2 Millionen Zellen im Kubikzentimeter enthielt. „Man spricht von deutlicher positiver Reaktion, wenn eine große Menge der Algenzellen um das Kapillarende angesammelt und in die Kapillare eingedrungen ist" (S. 499). Später wird ermittelt, in welcher Zeit 18—22 Zellen sich an der Capillare versammelt haben; also gilt diese Zahl schon als ausreichend.

Unter „negativer Reaktion" versteht MOEWUS „keine Ansammlung am Kapillarende"; andere Autoren nennen das indifferentes Verhalten. Von dem was man negativ chemotaktisches Reagieren nennt ist bei MOEWUS nie die Rede.

2. Die in den eigenen Versuchen angewandten Verfahren. In den allermeisten Fällen wurde die von PFEFFER, FRANK, PRINGSHEIM u. a. verwendete Methode befolgt. Die Suspensionen von auf 2%igem Agar gewachsenen Zellen wurden mit destilliertem Wasser hergestellt; über die Bildung der Schwärmer aus dem geißellosen Zustand ist oben berichtet. Die Zellaufschwemmungen waren ungefähr halb so dicht

wie die von Moewus (für andere Zwecke) verwendeten, enthielten also ungefähr 1 Million Zellen im cm³ oder noch weniger; Pfeffer weist wiederholt darauf hin, daß die Beurteilung der chemotaktischen Reaktion bei dünnen Suspensionen leichter ist.

Moewus gibt an, die Algen in 0,0001%iger Crocinlösung auf Chemotaxis geprüft zu haben, weil sie ja sonst im Dunkeln nicht beweglich sein sollen. In meinen Versuchen befanden die Zellen sich in destilliertem Wasser.

Wie schon Pfeffer getan hat, wurden gelegentlich die Schwärmer in einer Lösung suspendiert und in der Capillare destilliertes Wasser geboten. Diese Behandlung wird im Folgenden als „Gegenversuch nach Pfeffer" bezeichnet. Einigemale wurde die von Kusano (1909, S. 72f.) angegebene Methode versucht. Hier werden die Schwärmer in die Capillare gefüllt und die Capillare in einen Tropfen der zu prüfenden Lösung eingelegt. Zum Vergleich wurde auch die Methode von Moewus angewandt, teilweise ganz nach seiner Vorschrift, teilweise mit einer mir zweckmäßig erscheinenden Abwandlung: Als „Randversuche" bezeichne ich solche, in denen eine Probe Suspension an den einen Rand des Wassertropfens gegeben und von der anderen Seite die Capillare in die Nähe der makroskopisch sichtbaren grünlichen Wolke geschoben wird; für diese Versuche ist eine etwas dichtere Algensuspension günstig. Auf diese Weise wird der Weg, den die Schwärmer zurücklegen müssen, sehr kurz gehalten.

Die Capillaren wurden aus sorgfältig gereinigten Glasröhrchen gezogen und jeweils nur zu einem Versuch verwendet. Die lichte Weite war etwa 0,1 mm, die Länge 2—3 cm. Die Füllung geschah durch Aufsteigenlassen der Lösung in die beiderseits offene Capillare, Abschmelzen am einen Ende und Zurechtschneiden des anderen Endes mit einer Schere. In jedem Fall wurde darauf geachtet, ob nicht etwa eine beim Abschneiden eingedrungene Luftblase die Capillarenmündung versperrte. Beobachtet wurde bei 50facher, wenn die einzelnen Zellen verfolgt werden sollten bei 100facher Vergrößerung.

Die phototaktische Reizbarkeit der Schwärmer stört die Versuche kaum bei Anwendung der Pfefferschen Methode (gearbeitet wurde an einem Nordfenster). Experimente nach Moewus wurden in der Dunkelkammer ausgeführt, und Vorbereitung und Beobachtung geschahen bei Rotlicht.

Die Anzahl der mit der gleichen Konzentration eines Reizstoffes durchgeführten Versuche war unterschiedlich, je nach der Klarheit der Ergebnisse. Mindestens 3 Versuche wurden mit einer Lösung und mit verschiedenen Kulturen zum Vergleich angestellt.

II. Das chemotaktische Verhalten

1. Die Arten des Reagierens. Ausgangspunkt für die Beurteilung des Verhaltens der in destilliertem Wasser befindlichen Schwärmer gegen *Lösungen* in der Capillare ist die Beobachtung der Zellen, wenn auch die Capillare destilliertes Wasser enthält. (Am besten geschieht der Vergleich im selben Versuchstropfen mit 2 Capillaren, wovon die eine mit einer Lösung, die andere mit aqua dest. gefüllt ist.) Einschwärmen einzelner Algen in die Capillare findet natürlich oft statt, auch Festsetzen

von Schwärmern in der Capillare oder an ihrem Rand, aber eine auffallend höhere Dichte der Suspension in der Capillare kommt nicht zustande.

Reaktion im weitesten Sinne ist auch eine Lähmung der Schwärmer, die dann am Capillarmund sich sammeln können. Diese Ansammlungen, die je nach der Dichte der Suspension mehr oder weniger groß werden, können bei flüchtigem Betrachten eine positive chemotaktische Reaktion vortäuschen. Aber nur solange die Zellen in der Ansammlung größten-

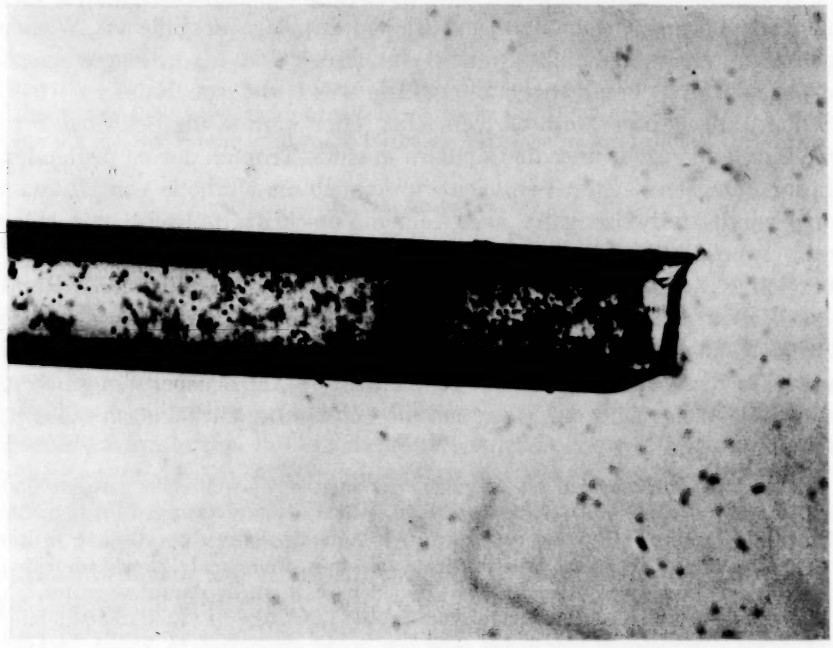

Abb. 2. a_{1-2} *r*. Die Schwärmer, die sich ursprünglich nahe der Mündung angesammelt hatten, verteilen sich allmählich rückwärts in die Capillare. Vergrößerung: ~ 120fach. Chemotaktikum: 0,01 % NH_4NO_3. — Zu den photographischen Aufnahmen wurden die Versuche mit größerer Zelldichte als gewöhnlich vorgenommen, weil so eindrucksvollere Bilder zu erhalten sind

teils beweglich bleiben, kann von *positiver* Reaktion gesprochen werden. (In allen Zweifelsfällen wurden gut bewegliche Zellen zum Vergleich direkt in einer Probe der Lösung suspendiert und beobachtet, ob eine Herabsetzung der Beweglichkeit eintritt.) Die Größe der beweglichen Ansammlungen und ihre Lage zur Capillare galten als Maß für die Stärke der Reaktion. Wichtig ist die sofortige Beobachtung nach Zugabe der Capillare, weil die Entstehung der Ansammlung verfolgt werden soll.

Bei sehr guter Anlockung ohne Abstoßung (z. B. durch 0,01 % KNO_3) bildet sich aus einem zunächst im Diffusionsfeld vor der Capillare versammelten Schwarm von Zellen ein Pfropf im Capillarmund, der sich unter Auflockerung bald nach innen zieht; ein spätes Stadium zeigt Abb. 2. Bei etwas höherer Konzentration (z. B. 0,1 % KNO_3) hat der

Schwarm in der Diffusionszone größere Ausdehnung, aber der starke Pfropf von Zellen bleibt infolge der abstoßenden Wirkung der Capillarlösung in der Nähe der Mündung, und nur wenig Zellen schwimmen weiter nach innen (Abb. 3). Noch höhere Konzentrationen (z. B. 1% KNO_3) rufen lockere Ansammlungen in Form einer größeren Wolke hervor, aus der die Schwärmer kaum in die Capillare eindringen; wie

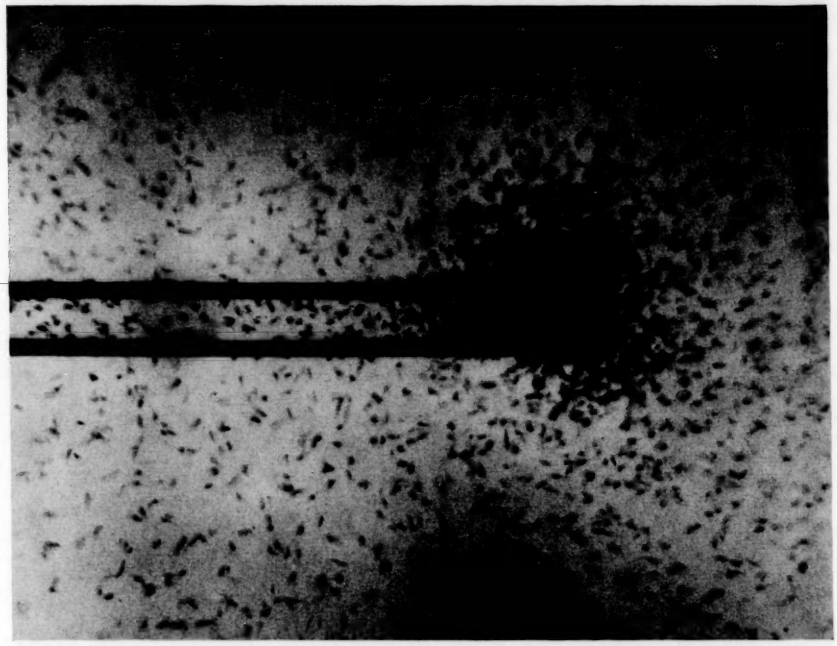

Abb. 3. $a_2\, r_{1-2}$. Aus den angesammelten Schwärmern hat sich im Capillarmund ein Pfropf gebildet; auf Grund der abstoßenden Wirkung dringt die Masse der Zellen nicht tiefer in die Capillare vor. Vergrößerung: ~ 120fach. Chemotaktikum: 0,1% NH_4NO_3

Eintragen der Zellen in die Lösung zeigt, wirkt diese deutlich schädigend. Es ist also wohl zu unterscheiden zwischen der Wirkung der Lösung in der Capillare und der des Stoffs im Diffusionsfeld.

Für die eindeutig *negative* Reaktion sind Bildung eines zellfreien Raumes im Umkreis der Capillarmündung und das Freibleiben der Capillare von Schwärmern bezeichnend (Abb. 4). Verteilen sich die Schwärmer um und in der Capillare in gleicher Dichte wie im übrigen Teil des Tropfens, so liegt indifferentes Verhalten vor.

Zur Beurteilung schwacher Reaktionen und zur Festlegung des Schwellenwertes wurde das Verhalten der einzelnen Zellen beobachtet. Hierbei wird die positive Reaktion am klarsten von den Zellen demonstriert, die seitlich auf die Diffusionszone treffen; sie schwenken entweder direkt zur Capillarmündung (anscheinend topisch), oder sie prallen, wenn sie an der Capillaröffnung vorbeigeschwommen sind, kurz

zurück (wohl phobisch), um dann in die Capillare einzubiegen. Die negative Reaktion besteht bei Zellen, die in der Verlängerung der Capillare gegen die Mündung schwimmen, in einem heftigen Zurückstoßen, wobei manchmal eine Strecke bis zu 10facher Körperlänge zurückgelegt wird; dieses Zurückstoßen kann mehrfach wiederholt werden, falls die Zellen in gleicher Richtung wieder voranschwimmen, meist kehren sich die Zellen aber von der Diffusionszone überhaupt ab.

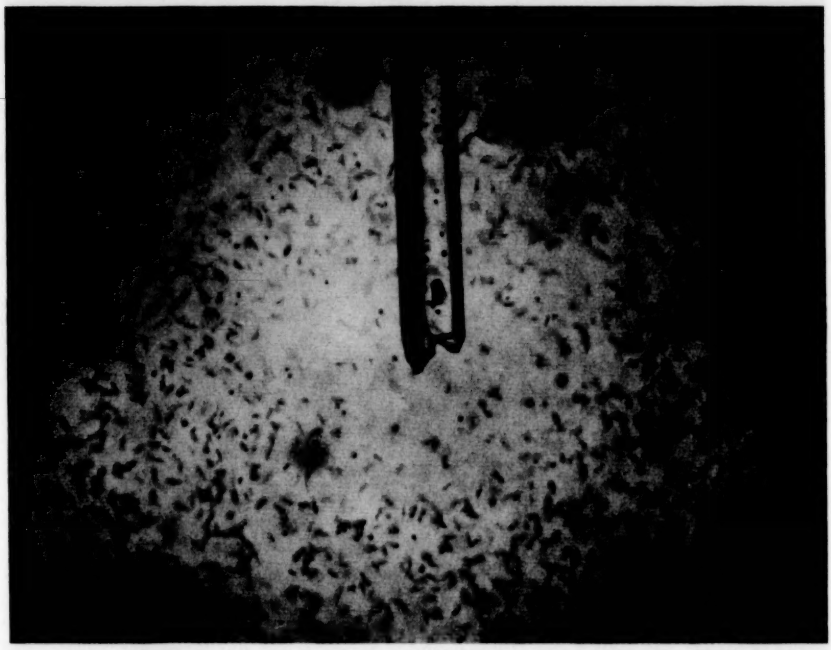

Abb. 4. r_2. Durch starke Abstoßung der Schwärmer bildet sich eine zellfreie Zone um die Capillarmündung. Vergrößerung: ~ 100fach. Chemotaktikum: 1 % Essigsäure

Bei schädigenden Lösungen geht das Zurückstoßen in ein langsameres Rückwärtsschwimmen über, wobei die Geißeln gegen die Capillare gewendet bleiben und die Zelle rückwärts schieben; weiterhin schwimmen die Algen entweder nach plötzlicher Wendung unter normaler Geißeltätigkeit von der Capillare weg, oder sie beschließen, allmählich langsamer werdend, das Umherschwimmen[1]. Mit einem einfachen mehr oder weniger heftigen Abschwenken von der Reizlösung reagieren solche Zellen, die seitlich auf die Diffusionszone treffen oder sich sehr langsam schwimmend nähern.

Als Schwellenwert für die positive Reaktion faßte ich die Konzentration der Reizlösung auf, die eine gerade noch erkennbare Ansammlung in der Capillare veranlaßt, d. h. bei der nur noch ein Teil der mit dem

[1] Eingehender hat ULEHLA (1911, S. 689ff.) das Verhalten der Geißeln bei Lichtreizung beschrieben.

Chemotaktikum in Berührung kommenden Zellen positiv reagiert. Die Festlegung des Schwellenwertes negativer Reaktionen ist schwieriger, da auch bei Blindproben immer wieder ein Zurückstoßen der Zellen im Capillarmund zu beobachten ist, das vielleicht eine Antwort auf Berührungsreize ist. Als Zeichen eben noch erkennbarer Repulsionswirkung wurde die Erscheinung genommen, daß mehrfach Zellen im Capillarmund nach außen umkehren oder auch schon vor ihm zurückweichen ohne dabei heftig zu reagieren; bei solchem Verhalten enthält die Capillare noch nach geraumer Zeit eine beträchtlich dünnere Zellsuspension als das Außenmedium. Zellen, die ohne jedes seitliche Abbiegen rechtwinklig zur Capillare durch die Diffusionszone schwimmen, erweisen sich damit als indifferent.

Bei den chemotaktischen Reaktionen spielt vielleicht auch die Verschiedenheit der Diffusionsgeschwindigkeit eine Rolle; so fällt bei Versuchen mit Zuckerlösung auf, daß die Zellen in geringerer Entfernung vom Capillarmund reagieren als bei Mineralsalzen, Alkoholen und Essigsäure.

Das Verhalten der Schwärmer war in verschiedenen Versuchen, wohl im Zusammenhang mit den Bedingungen der vorangegangenen Kultur, nicht ganz gleichmäßig. Dies macht die Beurteilung der Ergebnisse mitunter schwierig.

Die Bezeichnung der Versuchsergebnisse. Zur Protokollierung der Versuche wurden die Beobachtungen meist kurz in Worten geschildert. Für eine übersichtliche Darstellung der Ergebnisse erschien die Bezeichnungsweise von Pfeffer (1888, S. 599ff.) geeignet. Er gibt als Zeichen für Anlockung a, für Repulsion r und stuft ab von a_3 bis a_1 bzw. r_3 bis r_1; fragliche Reaktionen werden durch a ? oder r ? ausgedrückt. Der höchste Anlockungswert a_3 wurde unserem Objekt nirgends zugebilligt, denn die großartige Bestimmtheit, mit der z. B. Farnspermatozoiden und Rhodospirillen reagieren können, wird von *Chlamydomonas eugametos* wohl bei keinem der angewandten Chemotaktika erreicht. Dabei bleibt immer noch fraglich, ob die gewählten Stufen den von Pfeffer mit den gleichen Symbolen bezeichneten entsprechen; einen gewissen Anhaltspunkt bietet die Tatsache, daß die stärkste positive Reaktion bei *Chl. pulvisculus* von Pfeffer mit a_2 bewertet wird (1888, S. 614).

Da Pfeffer a_1 mit „eben merkliche Anziehung (Schwellenwert oder wenig mehr)" definiert, habe ich solche Reaktionen, durch die noch eine einigermaßen dichte Ansammlung in der Capillare zustande kam, mit a_{1-2} bezeichnet. Die wenigen gut positiven Reaktionen bekamen die Bezeichnung a_2. Alle schwach positiven Reaktionen, die nur kleine Ansammlungen von Zellen an und in der Capillare erzielen, wurden mit a_1 bewertet. Schwellenwerte wurden mit a ? bzw. r ? oder a ?—Ø bzw. r ?—Ø angedeutet. Indifferentes Verhalten trägt die Bezeichnung Ø.

Für r_1 gibt Pfeffer die Definition: „ganz schwache Repulsion", für r_2 „starke Repulsion". Deutlich abstoßende Wirkung von geringerer

Stärke, als sie z. B. bei Essigsäure erreicht wird, bekam daher die Bewertung r_{1-2}.

Wie schon PFEFFER hervorhebt, laufen neben Erscheinungen der Anlockung häufig solche der Abstoßung einher. Die Ursachen mögen verschiedener Art sein.

Bei hohen Konzentrationen liegen vielleicht positive Chemotaxis und negative Osmotaxis miteinander im Streit; so versteht auch PRINGSHEIM (1921, S. 109) das Nebeneinander beider Reaktionsweisen. Bei sauer reagierenden Substanzen könnte die Abstoßungskomponente von den Wasserstoffionen herrühren. Aber auch bei neutralen Elektrolyten könnten die beiderlei Ionen verschiedene Wirkung haben. Eine kausale Analyse in diesem Sinne wurde nicht versucht. Vielleicht täuschen auch Bewegungen, die durch Berührung der Geißeln mit der Capillarwand oder durch Berührungen zwischen den wimmelnden Schwärmern verursacht sind, mitunter Abstoßung durch die Lösung vor.

MOEWUS vertritt auf Grund seiner Ergebnisse mit 1 mol Saccharose die Ansicht, daß bei *Chl. eugametos* Osmotaxis fehlt (1939, S. 505). Negative Osmotaxis für Chlamydomonaden wird verzeichnet von: PFEFFER (1884, S. 444/45 u. 1888, S. 616), MASSART (1889, S. 559ff.) und PRINGSHEIM (1912, S. 358/59).

Die Geschwindigkeit der Bewegung ist bei den Chemotaxisversuchen schwer zu bestimmen. An sehr gut phototaktisch reagierenden Schwärmern aus einer Erdlösungskultur wurden 90 sec für eine Strecke von 9 mm gemessen, also etwa 100 μ/sec, was dem 10fachen der Körperlänge entspricht. Nach METZNER (1923 S. 474) sind 10—15 Körperlängen in der Sekunde bei Farnspermatozoiden eine hohe Geschwindigkeit.

2. Die Reaktion auf verschiedene Stoffe. *a) Fleischextrakt.* Gute positive Reaktionen wurden unter den geprüften organischen Substanzen nur durch LIEBIGS Fleischextrakt hervorgerufen, den schon PFEFFER (1884 S. 614) und FRANK (1904, S. 178) als gutes Chemotaktikum für *Chlamydomonas* erkannt haben. Am günstigsten wirken 1- und 0,1%ige Lösungen (p_H-Wert etwa 5,6); 0,01 und 0,001% sind schwach positiv wirksam. Anscheinende Repulsion kommt bei 1 und 0,1% in der Ansammlung vor dem Capillarmund zum Ausdruck. Abstoßung der Chlamydomonaden durch Fleischextrakt (allerdings bei höheren Konzentrationen) fehlte auch bei PFEFFER nicht (1888, Tabelle 2, S. 614: 5% $a_1 r_1$, 1% $a_2 r_1$, 0,1% ?), obwohl er den Fleischextrakt neutralisierte.

Nach der Methode von MOEWUS waren mit 1% Fleischextrakt in 2—4 min Ansammlungen von 5—10, selten von rund 30 und mehr Zellen zu erzielen, mit 0,5 und 0,1% nicht einmal das. Der Weg, den die Schwärmer dabei zurückzulegen hatten, war etwa 7—9 mm. Wurde im „Randversuch" die Capillare nahe an die Zellen herangebracht, so fanden sich schon nach 30 sec rund 30 und mehr Zellen am Capillarmund und im Innern der Capillare ein. Wie sich von selber versteht, kommt eben alles auf die anfängliche Entfernung zwischen Algen und Capillare an. Aber viel eindrucksvollere Reaktionsbilder liefert die Pfeffersche Methode. — MOEWUS selbst hat Fleischextrakt nicht geprüft.

b) Pepton und *Aminosäuren.* Als wesentlicher Bestandteil des Fleischextraktes wurde *Pepton* geprüft. 0,01% und zum Teil 0,001% rufen schwach positive Reaktionen hervor. Von 1—0,1% überwiegt

die repulsive Wirkung. Ansammlungen, die bei diesen Konzentrationen entstehen, sind mit *a* ? zu bezeichnen, da sie zumindest mitveranlaßt sind durch eine Hemmung der Schwärmer, die in die Diffusionszone geraten sind. Bei direkter Zugabe von beweglichen Zellen aus Wasser in 1%ige Lösung setzen sie sich zunächst fest, sind nach ungefähr 15 min aber wieder gut beweglich. Gibt man begeißelte Zellen von Agarröhrchen in diese Peptonlösung, so ist keine Verminderung der Beweglichkeit zu beobachten.

Glykokoll. Die meisten Zellen biegen vor der Capillare mit 10% (= 1,33 mol) ab, Ansammlung am Capillarmund beruht wohl auf Lähmung; die in die Capillare eingedrungenen Zellen werden eckig deformiert. Bei 1% herrscht Repulsion gegenüber Anziehung vor; bei 0,1% werden leichte Ansammlungen im Capillarmund beobachtet, daneben ist auch ein Abschwenken der Zellen vom Capillarmund noch deutlich. Gegenüber 0,01% ist das Verhalten schon ziemlich indifferent. Der p_H-Wert der 1%igen Lösung ist 5,4.

Alanin. Im großen und ganzen ist das Verhalten gegen d,l-Alanin indifferent. Von den Capillaren mit 10% biegen die Schwärmer ab, teilweise reagieren sie auch bei 1% so. Kleine Zellansammlungen kommen bei 1 und 0,1% vor, sind aber kaum als positive Reaktion zu verstehen. Der p_H-Wert der 1%igen Lösung war 4,8—5.

Moewus fand Glykokoll chemotaktisch unwirksam, d,l-α-Alanin stellt er dagegen zu den positiv wirksamen Substanzen (1939, S. 506).

c) Zucker. Am auffälligsten ist Moewus' Befund bei *Rohrzucker*, der in molarer Lösung (34,2%) positiv chemotaktisch wirken soll, bei 0,1 und 0,01 mol aber nicht (1939, S. 504). Ich finde bei 1 mol vorzugsweise negative Reaktion, insofern die Schwärmer von der Capillarmündung abbiegen. Einzelne Zellen dringen in die Capillare ein, und wenn sie diese nicht nach kurzer Zeit wieder verlassen, werden sie plasmolysiert, bei eckiger Deformation der Protoplasten, bleiben liegen und sterben ab, wie das Körnigwerden des Plasmas anzeigt. Auffallenderweise kommt es auch vor, daß eine Zelle, die im Begriff scheint aus der Lösung zu fliehen, am Capillarmund zurückschreckt und dann der Plasmolyse verfällt. Bei Versuchen mit Kusanos Methode schrecken die Schwärmer in der wassergefüllten Capillare vor dem eindringenden Zucker zurück und werden in einiger Entfernung vom Capillarmund unbeweglich. Bei der Anwendung der Methode von Moewus, besonders in „Randversuchen", kam es zu kleinen Ansammlungen von Zellen, die vor oder in der Capillare gelähmt liegen bleiben. Negative Reaktionen von einer Entschiedenheit, wie sie Pfeffer für *Chl. pulvisculus* (1884, S. 444/45) beschreibt, kommen nicht vor, eine wohlausgebildete negative Osmotaxis ist also nicht vorhanden. $^1/_2$ mol (17,1%) wirkt ähnlich; die Zellen sterben ab. Bei 0,1 mol ($^3/_4$%) ist die Abstoßung noch deutlich, Anlockung ist fraglich, Schädigung bleibt aus. Bei 0,01 mol brachten einige Versuche schon ein indifferentes Ergebnis.

Der „Gegenversuch" nach PFEFFER läßt sich mit 0,1 mol Saccharose ausführen, weil die Zellen sich an diese Lösung gut gewöhnen. Die in der Zuckerlösung schwimmenden Zellen weichen der mit destilliertem Wasser gefüllten Capillare aus. Zellen, die einmal eingedrungen sind und sich eine Zeitlang darin aufgehalten haben, schrecken nun wieder vor der Lösung am Capillarmund zurück. Die Umstimmung scheint also ziemlich rasch einzutreten.

Von den übrigen Zuckern, die MOEWUS verwendet hat, konnte ich Glucose, Maltose, Lactose, Cellobiose und Raffinose prüfen. Keiner dieser Zucker ergab ein so eindeutig positives Ergebnis wie z. B. Fleischextrakt.

Nur bei *Maltose* und *Lactose* ließ sich schwache positive Wirkung beobachten, bei Maltose im Bereich von $^1/_{10}$—$^1/_{100}$ mol, bei Lactose bei $^1/_{10}$ mol. Auch mit *Glucose*, *Raffinose* und *Cellobiose* waren kleine Zellansammlungen zu bekommen, die nicht nur auf passive Weise entstanden schienen; da aber auch indifferentes Verhalten gegenüber $^1/_{10}$ und $^1/_{100}$ mol dieser Zucker auftrat, kann die positive Chemotaxis nur mit *a*? bewertet werden. Repulsive Wirkung war fraglich.

MOEWUS will Glucose noch bei 10^{-3} mol wirksam gefunden haben. In meinen Versuchen brachten bei Anwendung seiner Methode 0,1 und 0,01 mol Glucose keine Ansammlung zustande, wohl aber, vielleicht zufällig, 0,1 mol Maltose.

PFEFFER (1888, S. 614) fand für *Chl. pulvisculus* nur eine „fragliche" Reaktion auf 10% Dextrose (etwa 0,5 mol). FRANK (1904, S. 178) prüfte Rohrzucker und Traubenzucker (10%, 5%, 1%) bei *Chl. tingens* und beobachtete Indifferenz, allerdings nach 30 min Versuchsdauer, was vielleicht nicht ganz zweckmäßig war.

d) Alkohole und *Aceton*. MOEWUS gibt für 8 Alkohole an (ohne Konzentrationswerte), sie seien positiv chemotaktisch wirksam (1939, S. 506). Ich habe nur drei dieser Verbindungen geprüft, nämlich Methanol, Äthanol und tert. Amylalkohol.

Am eingehendsten wurde *Äthylalkohol* untersucht. Ausgesprochene Abstoßung trat ein bei Konzentrationen von 10—0,01% (das sind 2—0,002 mol), positive Wirkung ist fraglich. Bei 0,001% ist die repulsive Reaktion fraglich, aber Anziehung fehlt sicher. Die Zellen bleiben während der Zeit der Beobachtung beweglich, selbst aus 10% schwimmen einzelne Zellen wieder heraus; eine Giftwirkung ist also bei diesen Konzentrationen gering. Versuche mit der Methode von MOEWUS mit 1, 0,1 und 0,01% zeigten ähnliches Verhalten der wenigen Zellen, die sich vor der Capillare versammelten.

Methylalkohol wirkte in Konzentrationen von 10—0,001% (3,12—0,0003 mol) mehr oder weniger repulsiv, die Repulsionen sind aber, wie allgemein bei den hier geprüften Alkoholen, auch bei 10 und 1% nicht so exakt, daß sie das Eindringen von Schwärmern in die Capillare völlig verhindern, in der sie entweder rasch unbeweglich werden oder aus der sie wieder entfliehen, wobei sie häufig durch ruckartiges Abschwenken und heftiges Hin- und Herpendeln das Wahrnehmen eines Reizes anzeigen.

Tertiärer Amylalkohol $C_5H_{12}O$ wirkt in 10- und 1%iger Lösung (= 1,1 bis 0,11 mol) stark repulsiv, bei 0,1—0,001% ist die Repulsion schwächer, aber noch sichtbar, Anziehung ist fraglich.

Aus der Reihe der von MOEWUS chemotaktisch unwirksam gefundenen Alkohole wurden Allylalkohol und Glycerin geprüft.

Gegen *Allylalkohol* (C_3H_6O) in Lösungen von 1% (= 0,17 mol), 0,1—0,001% verhielten sich die Algen ähnlich wie gegenüber den oben genannten Alkoholen; Zeichen einer positiven Wirkung traten nicht auf. — Pringsheim u. Mainx (1926, S. 604) fanden die Substanz bei *Polytoma uvella* „stark wirksam", mit einem Schwellenwert von 10^{-4} mol = 0,00059%.

Glycerin. Konzentrationen von 10% (= 1 mol) und 1% wirken deutlich abstoßend. Schwächer sind die Repulsionen durch die 0,1%ige Lösung, und die Reaktion auf 0,01% ist z. T. schon indifferent. Bei direkter Zugabe von 1% Glycerin bleiben die Schwärmer gut beweglich und schrecken im Gegenversuch vor der mit Wasser gefüllten Capillare zunächst zurück, bilden dann aber leichte Ansammlungen am Capillarmund. Auch Versuche nach Kusano lassen die schwach abstoßende Wirkung des Glycerins erkennen. — Pfeffer (1888, S. 614) und Frank (1904, S. 178) finden Glycerin bei *Chlamydomonas* ohne Wirkung.

Aceton. Eine anlockende Wirkung der Lösungen von 1—0,001% wurde nicht sichtbar. Deutliche Repulsionen traten auf bei 1 und 0,1%, bei 0,01% waren sie erst an Zellen im Capillarmund zu sehen und bei 0,001% ließ sich auch indifferentes Verhalten der Schwärmer beobachten.

e) Essigsäure, Natriumacetat und Acetamid. Essigsäure. 1% (p_H = 3,36) und 0,1% (p_H = 3,64) stoßen sehr stark ab. Noch bei 0,01% = 0,0016 m (p_H = 3,93) und 0,001% (p_H = 4,20), ist die Abstoßung ausgeprägt, bei 0,0001% (p_H = 4,50) ist sie teilweise noch immer zu sehen. Anziehung wurde lediglich bei 0,001% mehrmals beobachtet, Versuche nach Kusano mit 0,001% ergaben aber eindeutig Vorherrschen der negativen Reaktion.

Natriumacetat. Negative Reaktionen sind gegen 10% (= 0,73 mol, p_H = 7,7) stark, schwächer gegen 1% (p_H = 7,0) und 0,1% und fraglich bei 0,01%. Eindeutig positives Verhalten, wie es nach den Angaben von Moewus (1939, S. 506; 1943, S. 420) zu erwarten wäre, konnte nicht beobachtet werden, es blieb unsicher von 1—0,01%.

Acetamid. Lösungen von 10% (= 1,7 mol) und 1% (p_H = 5,0) wirken abstoßend und nur fraglich anlockend; bei 0,1% reagieren die Zellen neben fraglicher Repulsion vielfach phobisch positiv, und in dieser Konzentration bleiben die Zellen auch einige Tage lang beweglich. Bei 0,01% (p_H = 4,9) ist noch Abstoßung zu beobachten; das Verhalten gegen 0,001% ist weitgehend indifferent. Gegenversuche mit Zellen, die sich seit 45 min in 1, 0,1 oder 0,01% befanden, gaben kein klares Resultat.

f) Anorganische Salze. 1. Die *Nitrate* von *Ammonium*, *Natrium*, *Kalium* und *Calcium* wirken in Lösungen von 1—0,001% positiv chemotaktisch. Weiträumige, meist starke Ansammlungen, die sich um den Capillarmund konzentrieren und wenig in ihn eindringen, rufen die Lösungen von 1 und 0,1% hervor. Der Radius der Ansammlung am Capillarmund wird merklich kleiner bei 0,01%; die Zellen dringen, besonders bei 0,001%, tiefer in die Capillare ein, eine Repulsion wird hier nicht mehr deutlich. Während NH_4-, Na- und K-NO_3 in 0,001%iger Lösung neben fraglich positiven noch gut positive Resultate erbrachten, traten bei $Ca(NO_3)_2$ schon indifferente Reaktionen auf.

2. *Kaliumchlorid* bewirkt in 1%iger Lösung kräftige Abstoßung, die schwächer in Verdünnungen bis 0,01% anhält. Eine anziehende Wirkung

Tabelle 3. *Zucker*

mol	Saccharose	Glucose	Maltose	Lactose	Cellobiose	Raffinose
1	r_{1-2} a?	—	—	—	—	—
1/10	r_1 a?	a? r?	a_1 r?	a_1—a? r?	r_1 a?	r_1 a?
1/100	r? a?—Ø	a?	a_1—a?	a?	a?—Ø	a?
1/1000	Ø	—	Ø	Ø	—	Ø

Die Ergebnisse von MOEWUS (nach Tabelle 13, S. 504 und der Bemerkung, daß zunächst alle Zucker in 1%iger Lösung geprüft wurden):

1	+	—	—	—	—	—
1/10	0	+	—	—	+	—
1%	—	—	+	+	—	+
1/100	0	+	—	—	0	—
1/1000	0	+	—	—	0	—
1/10 000	0	0	—	—	0	—

Tabelle 4. *Alkohole*

Konzentration in %	Methylalkohol 10 % = 3,12 m	Äthylalkohol 10 % = 2,17 m	Allylalkohol 10 % = 1,72 m	tert. Amylalkohol 10 % = 1,13 m
10	r_{1-2}	r_{1-2}	—	r_{1-2}
1	r_{1-2}	r_{1-2} a?	r_{1-2}	r_{1-2}
0,1	r_{1-2}	r_{1-2} a?	r_{1-2}	r_{1-2}
0,01	r_1	r_1	r_1	r_1
0,001	r?	r?	r_1	r_1 a?
0,0001	—	Ø	r?—Ø	Ø

Tabelle 5. *Weitere organische Substanzen*

	1% = n mol	10 %	1 %	0,1 %	0,01 %	0,001 %	0,0001 %
Glycerin	0,11	r_{1-2}	r_{1-2}	r_1	r?	Ø	—
Aceton	0,16	—	r_{1-2}	r_{1-2}	r_1	r?—Ø	—
Essigsäure	0,16	—	r_2	r_{1-2}	r_{1-2}	r_1 a?	r?—Ø
Na-acetat + $3H_2O$	0,07	r_{1-2}	r_1 a?	r_1 a?	r? a?	Ø	—
Acetamid	0,17	r_{1-2} a?	r_1 a?	r? a?	r?	Ø	—
Glykokoll	0,13	r_{1-2}	r_1 a?	r? a_1—a?	r? a?	—	—
dl-α-Alanin	0,11	r_{1-2}	r_1 a?	r? a?	Ø	—	—
Fleischextrakt	—	—	a_2 r_1	a_{1-2} r_1	a_1 r?	a_1—a?	a?—Ø
Pepton	—	—	r_{1-2} a?	r_1 a?	a_1 r?	a?	Ø

Tabelle 6. *Mineralsalze*

	1% = n mol	1 %	0,1 %	0,01 %	0,001 %	0,0001 %
NH_4NO_3	0,12	a_2 r_{1-2}	a_2 r_1	a_{1-2} r?	a_1—a?	Ø
KNO_3	0,12	a_2 r_{1-2}	a_2 r_1	a_{1-2} r?	a_1—a?	Ø
$NaNO_3$	0,10	a_2 r_{1-2}	a_2 r_1	a_{1-2} r?	a_1—a?	Ø
$Ca(NO_3)_2$	0,06	a_2 r_{1-2}	a_2 r_1	a_{1-2} r?	a?—Ø	Ø
KCl	0,13	r_{1-2} a?	r_1 a?	r_1 a_1—a?	Ø	—
K_2SO_4	0,05	r_1 a?	r? a_1—a?	r? a?	Ø	—
KH_2PO_4	0,07	r_1 a?	r_1 a?	r? a?	Ø	—
K_2HPO_4	0,06	r_1 a?	r? a?	r? a?	a?	Ø

bleibt fraglich bei 1 und 0,1 %; nur bei 0,01 % tritt eine schwache positive Chemotaxis auf, die aber nicht stärker als die negative wird. — PFEFFER

(1888, S. 614) fand demgegenüber bei *Chl. pulvisculus* KCl unter den anorganischen Substanzen besonders wirksam, aber in hohen Konzentrationen: 9,53% $a_1 r_1$, 1,906% $a_2 r_1$, 0,191% a_1.

3. *Kaliumsulfat.* Eine schwach abstoßende Wirkung ist bei 1% zu sehen, eine anlockende ist fraglich. Mit 0,1% lassen sich vereinzelt schwach positive Reaktionen beobachten. 0,01% zeigt kein Zunehmen der positiven Reaktion, das Verhalten ist schon recht indifferent.

4. *Kaliumphosphate.* Das *primäre* und das *sekundäre* Kaliumphosphat (KH_2PO_4 und K_2HPO_4) verursachen weder ausgeprägte positive noch negative Chemotaxis. Die 1%ige Lösung wirkt in beiden Fällen schwach abstoßend, bei KH_2PO_4 ebenso die 0,1%ige. Eine anlockende Wirkung bleibt fraglich auch bei den Konzentrationen von 0,1—0,01%, für K_2HPO_4 noch bei 0,001%.

Frank (1904, S. 176/178) gibt für *Chl. tingens* die hier geprüften Nitrate und stark verdünnte Salpetersäure als sehr gute Chemotaktika an, während er mit einer Reihe von Sulfaten und $FeCl_3$ keine positive Chemotaxis veranlassen konnte und auch mit KH_2PO_4 ein schwächeres positives Ergebnis bekam.

Chl. tingens steht *Chl. eugametos* also im chemotaktischen Verhalten nahe; sie wurde von Frank gut in rein anorganischer Nährlösung gezogen. Die durchwegs höheren Werte für die Reizlösungen bei Frank lassen sich aus der Beurteilungsweise erklären (1904, S. 176), z. B. „Als ‚sehr gut' bezeichnete ich die Reizwirkung des betreffenden Körpers, sobald derselbe fähig war, eine Ansammlung fast aller im Tropfen umherschwimmenden Schwärmer in der Capillare selbst und vor derselben zu bewirken ... ‚Schwach' nannte ich endlich eine Ansammlung dann, wenn sich die Individuen nur innerhalb der Capillare und in weniger dichter Masse ansammelten."

g) Tabellarische Übersicht. Die in den Tabellen angewandten Zeichen bedeuten: a_2 gute positive Chemotaxis, a_{1-2} positive Chemotaxis noch eindeutig, a_1 positive Chemotaxis schwach, a? positive Chemotaxis fraglich; r_2 starke Abstoßung, r_{1-2} deutliche Abstoßung, r_1 schwache Abstoßung; Abstoßung erst in der Capillare, r? unsichere Reaktion; ein Teil der Zellen wird abgestoßen.

C. Besprechung

Da die vorliegende Studie von vornherein der Kontrolle und Kritik der Arbeiten von Moewus galt, soll hier zusammengefaßt werden, was sich über die von Moewus mitgeteilten Befunde sagen läßt.

Man möchte meinen, daß man sich auf Angaben verlassen könne wie die, daß an geißellosen Zellen, wenn sie in Wasser gebracht werden, die Geißeln im Dunkeln ohne einen Reizstoff (Crocin, Zucker) nicht entstehen: aber sie brauchen keinen Reizstoff und kein Licht; daß die Zellen, die im Licht Geißeln gebildet haben, im Dunkeln unbeweglich werden: aber sie bleiben im Dunkeln viele Stunden lang beweglich; daß die Geißeln durch Zufügung der gleichen Menge absoluten Alkohols zu einer wäßrigen Algensuspension fixiert werden: aber die Geißeln fallen bei Behandlung mit Alkohol ab. Wenig wahrscheinlich klingt schon die Behauptung, die Geißeln würden in 3 min fertig ausgebildet: in Wirklichkeit brauchen sie mindestens eine halbe Stunde.

Das allmähliche Hervorwachsen der Cilien von Saprolegnien hat Rothert (1892, S. 322) beobachtet; auch sie werden schon als „ganz kurze, gerade, pendelartig hin- und herschwingende Borsten sichtbar". Dasselbe stellt Francé (1894,

S. 311) für die Polytomeen fest. Auch für die Bakteriengeißel gilt nach FISCHER (1895, S. 126) „ein zwar schnelles, aber immerhin allmähliches Hervorwachsen" und nicht „ein augenblickliches Hervortreten protoplasmatischer Fäden".

Alles was über die Auszählung begeißelter Zellen nach Alkoholfixierung mitgeteilt wird, hat also keinen Boden. Über die Unmöglichkeit, solche Präparate herzustellen, wie MOEWUS sie angefertigt haben will — 0,3 ml Wasser unter einem Deckglas von 50:22 mm Größe *mit Paraffinrand* —, über die Zahlen der Zellen, die MOEWUS durchgesehen haben will — im Hauptversuch 140 Millionen —, und über die darauf verwendete Zeit hat RENNER (1958) sich schon geäußert.

Bei der vagen Art, in der MOEWUS seine Chemotaxisversuche beschreibt, kann man nie sicher beurteilen, ob er wirklich Chemotaxis beobachtet hat. Er gibt nichts an über die Strecke, die die Schwärmer zu durchschwimmen haben, über die Zelldichte bei der zuletzt erreichten gleichmäßigen Verteilung der Algen im Tropfen, noch weniger über das Verhalten der einzelnen Zellen an oder in der Capillare. Er versichert nur: „Man ist nie im Zweifel, ob eine chemotaktische Anlockung vorliegt oder nicht. Bei nicht wirksamen Substanzen ist die Algenverteilung ganz gleichmäßig im Tropfen, bei den wirksamen ist stets eine deutliche Ansammlung zu beobachten"; aber wenn man den Versuch so lange ausdehnt, daß sich die Algen über den ganzen Tropfen verteilen, hat die Zugabe am Tropfenrand keinen Sinn. Schon PFEFFER weist darauf hin, daß Ansammlung von Schwärmern am Capillarenmund noch kein sicheres Kriterium für positive Chemotaxis ist, weil die Zellen einfach durch Minderung der Beweglichkeit in ungünstig wirkendem Medium festgehalten werden können. MOEWUS hat nicht einmal daran gedacht, sich solche Zellen anzusehen, die in einer Mollösung von Saccharose liegen bleiben; sie müssen ja plasmolysiert werden bzw. Cytorhyse erleiden[1].

Von negativer Taxis berichtet MOEWUS überhaupt nicht, er kennt nur positiv wirksame und unwirksame Substanzen, und wenn er gelegentlich von negativer Reaktion spricht, meint er damit indifferentes Verhalten. Bei Essigsäure z. B., die er positiv wirksam gefunden haben will, ist die abstoßende Wirkung auch bei sehr geringer Konzentration ausgesprochen.

Über die angewendeten Konzentrationen gibt MOEWUS (ausgenommen 15 Zucker, Crocin und Crocetinester) nichts an. Das gilt für 22 anorganische Salze, für 27 wirksame und für 23 unwirksame organische Substanzen.

Wenn wir für in eigenen Versuchen geprüfte Stoffe seine Angaben bestätigen können, wie für einige Zucker, können das auf seiner Seite Zufallstreffer sein. Häufiger fehlt die Übereinstimmung. Methyl-,

[1] Herr Prof. Renner hat Herrn Dr. MOEWUS brieflich gefragt, wie die Zellen sich in einer solchen Lösung benehmen, aber keine Antwort darauf bekommen, und die Anfrage hat MOEWUS auch nicht zu einer Äußerung in seiner Publikation veranlaßt.

Äthyl-, tert. Amylalkohol, weiter Aceton, Essigsäure, Natriumacetat, die er (ob in 1%iger Lösung wie die Zucker?) alle positiv wirksam findet, zeigten ausgesprochene Abstoßung, und unter den anorganischen Salzen, denen er chemotaktische Wirkung samt und sonders abspricht, wirken die Nitrate recht gut positiv.

Alle Chemotaxisversuche will Moewus im Dunkeln, und mindestens in gewissen Reihen mit einem höchst umständlichen Verfahren ausgeführt haben an Zellen, die durch Crocin beweglich gemacht worden sind. Die dabei aufgewendeten Arbeit müßte so verschwenderisch gewesen sein wie man es bei ihm gewohnt ist.

Crocin haben wir nicht geprüft. Weil Moewus seine Dunkelzellen erst durch Crocin beweglich macht, kann er nicht die absolute Reizschwelle prüfen, sondern nur die Unterschiedsschwelle. Diese soll für verschiedene Stämme von *Chlamydomonas* außerordentlich hoch sein, nämlich 1:10000, 1:100000 und 1:1000000. Niemand, der die Literatur über Reizschwellen studiert und sich die maßgebenden Vorgänge vergegenwärtigt, wird das glauben. Der weitaus höchste bekannte Wert, der bei der Chemotaxis von Farnspermatozoiden gegen Äpfelsäure gefunden wurde, beträgt 1:30.

Umgekehrt soll die absolute Reizschwelle für die Dimethylester des Crocins unerhört niedrig liegen, nämlich bei 10^{-14} mol, und das gleichermaßen bei 6 verschiedenen Stämmen, also um 5 Zehnerpotenzen niedriger als Pringsheim und Mainx (1926, S. 605: 10^{-8}—10^{-9} mol) bei *Polytoma uvella* für Triolein gefunden haben.

Sonst hat Moewus (1939, S. 504) Reizschwellen nur bei Zuckern aufgesucht, und zwar findet er bei drei verschiedenen Arten von *Chlamydomonas* jeweils den Zucker am stärksten chemotaktisch wirksam, der in 1%iger Lösung in der kürzesten Zeit (in 10—13 min) die geißellosen Zellen beweglich macht (S. 487). Bei *Chl. eugametos* ist das Gentiobiose, bei *Chl. dresdensis* Cellobiose, bei *Chl. Braunii* Cellotriose, und die Schwelle liegt jeweils bei 10^{-4} molar. Die d-Glucose ruft bei allen 3 Arten Geißelbildung erst in 21—25 min hervor, und hier liegt die Schwelle übereinstimmend bei 10^{-3} mol. Saccharose soll die Geißeln erst in 50—60 min auswachsen lassen, und die Schwelle wird hier zu 1 mol angegeben, ohne daß der Autor die stark plasmolysierende Wirkung dieser Konzentration beachtet. Von all dem ist nichts zu glauben.

In den eigenen Versuchen habe ich, wie Pringsheim u. Mainx für *Polytoma uvella* getan haben, immer versucht, die Schwellenkonzentration bei Abstufung um Zehnerpotenzen zu bestimmen, aber die Grenzen waren meist unsicher. Die niedrigste Schwelle ist für NH_4NO_3 mit einiger Sicherheit bei 0,00001% oder 10^{-6} mol gefunden worden. Gegenüber der sehr eingehenden systematischen Untersuchung der beiden Autoren an *Polytoma* habe ich an meinem Objekt nur spärliche Stichproben gemacht. Aber diese lassen doch erkennen, daß die beiden

Organismen, als Vertreter sehr verschiedener Ernährungstypen, sich in ihrem Reizverhalten unterscheiden. *Polytoma* reagiert, teilweise mit hoher Empfindlichkeit, positiv gegen Essigsäure, Na-Acetat, Äthyl-, Amyl- und Allylalkohol, die alle auf *Chlamydomonas* im wesentlichen abstoßend wirken. Und *Polytoma* ist indifferent gegen Zucker, Fleischextrakt, Mineralsalze (PRINGSHEIM 1921, S. 107), die *Chlamydomonas* anlocken. — Von Abstoßungs- neben Anlockungserscheinungen ist bei PRINGSHEIM (1921, S. 209) kurz die Rede. PRINGSHEIM u. MAINX „fanden keine negative Reaktion auf starke Lösungen" (S. 616).

Cis- und trans-Dimethylester des Crocetins sollen gleiche chemotaktische Wirkung auf Crocin-Dunkelzellen haben. Es wurden aber, wenigstens auf dem Papier, auch noch Mischungen der beiden Ester geprüft, und zwar in 21 Stufen von 100 cis:0 trans, 95 cis:5 trans und so fort bis zu 0 cis:100 trans, und das an 5 verschiedenen Stämmen, mit immer gleichem Ergebnis, und in 45—60 Einzelversuchen bei jeder Stufe (S. 507, Tabelle 15 und 16). Das gibt $21 \times 5 \times 50 = 5250$ Capillarenversuche im Dunkeln. Selten wird jemand von so überflüssigen Experimenten erzählt haben.

Über das erstaunlichste, in der Tabelle 20 niedergelegte Ergebnis von MOEWUS, die unterschiedliche chemotaktische Wirkung verschiedener Mischungen von cis- und trans-Ester auf 8 verschiedene Sorten reaktionsfähiger Gameten, hat RENNER sich schon geäußert. Hier soll nur noch „Die Geschwindigkeit der Reaktion" (S. 514ff.) erörtert werden. Dieses Kapitel bringt die Erklärung für die Einführung einer neuen, umständlichen Methode anstelle der bewährten alten. Wenn MOEWUS zwischen die Schwärmer und das Capillarenende einen mehrere Millimeter langen Weg einschaltet, so tut er das, um die Vorstellung zu erwecken, er sei imstande Reaktionsgeschwindigkeiten zu bestimmen, wozu die Pfeffersche Methode nicht geeignet ist. Daß er sein neues Verfahren allgemein angewendet haben will, auch wo es nicht um Geschwindigkeiten geht, ist schwer zu verstehen.

Die Reaktion muß wieder im Dunkeln erfolgen, das Ergebnis wird in dem Augenblick festgestellt, in dem das Präparat in rotes Licht kommt (S. 499). Als maßgebende Zeitspanne wird die betrachtet, in der 18—22 Zellen (genau so, nicht weniger und nicht mehr) positiv reagiert haben (S. 514). Je nach dem Mischungsverhältnis der beiden Ester, bei „cis/trans-Unterschieden" von 90:90 bis 20:20 Teilen, sind im Mittel aller 8 Gametensorten (Tabelle 24 und 25) 30, 35, 40, 50, 68, 96, 167, 233 sec nötig; „je geringer der cis/trans-Unterschied, desto länger dauert es, bis 18—22 Zellen vor der Kapillarenöffnung angesammelt sind". Bei den raschesten Reaktionen erstreckt sich die Streuung von 25—35 sec. Die Zahl der geglückten Versuche ist 629, die Gesamtzahl mit Einschluß der nicht verwertbaren und der ergebnislosen Versuche ist $64 \times 20 = 1280$.

Wohl ein halbdutzendmal (S. 514, 515, 516) heißt es: Ansammlung *vor* der Capillarenöffnung; von einem Eindringen der Schwärmer in die Capillare, wie es bei guter Reaktion immer eintritt, ist hier nie die Rede, sondern nur bei der allgemeinen Darstellung der Methode (S. 499). Gut reizbare Schwärmer sind aber dauernd in Bewegung, und in einem wimmelnden Häufchen von 18 oder 20 oder 25 Zellen die Zahl sicher festzustellen ist unmöglich, auch wenn man sich Zeit läßt. Die Zählung müßte jedoch im Laufe weniger Sekunden geschehen, weil Moewus zwischen 25, 30 und 35 sec unterscheidet. Schon wenn man Gruppen von 17—23 Linsensamen in einem Porzellanteller vor sich liegen hat, ist es nicht leicht, sie ohne Verwendung des Fingers rasch auszuzählen.

Ob die kürzeste Frist von 25—30 sec ausreicht, um die Schwärmer vom Tropfenrand zu der Capillare kommen zu lassen, ist nicht sicher zu entscheiden, weil Moewus die Entfernung nicht angibt. Nach unserer Beobachtung der phototaktischen Bewegung konnten die Algen in 30 sec nur 3 mm weit schwimmen. Die Mulde hohlgeschliffener Objektträger pflegt etwa 15 mm Durchmesser zu haben, eine Wegstrecke von 10 mm wäre also wohl möglich, und diese können die Algen in 100 sec zurücklegen. Warum es aber bei den zwar schwach, doch noch immer positiv wirkenden Konzentrationen 4 min dauern soll, bis aus dem Wölkchen von Zellen an der Capillarenmündung etwa 20 von der Capillare Notiz nehmen, ist nicht einzusehen; davon ganz abgesehen, daß in dieser Zeit schon eine beträchtliche Menge des Chemotaktikums herausdiffundiert sein kann. Der ganze Versuch, der, unbewußt oder nicht, wohl mit einer beträchtlichen Reichweite der chemotaktischen Wirkung rechnet, ist schlecht erfunden.

Auf eine weitere Schwäche der Moewusschen Protokolle ist noch hinzuweisen. In der Tabelle 20 sind Chemotaxisversuche mit 121 Stufen von cis/trans-Mischungen dargestellt, ohne daß ein Wort über verschieden rasches Reagieren bei verschiedenen Unterschieden gesagt würde. Unterschiede zwischen $^1/_2$ min und 4 min hätten doch schon hier auffallen müssen.

Zusammenfassung

Geißellose Zellen von *Chlamydomonas eugametos* Moewus (*Chl. Moewusii* Gerloff) lassen sich nach der Vorschrift von Moewus mit Sicherheit gewinnen durch lockeres Aussäen von Schwärmern auf 5%igen Agar. Der Verlust der Geißeln scheint durch Einziehung, nicht durch Abwerfen zustande zu kommen. Dagegen findet Abwerfen der Geißeln statt bei den verschiedensten Schädigungen, z. B. in hohen Temperaturen, bei zu hohen oder zu niederen p_H-Werten, in hohen Konzentrationen von Äthylalkohol.

Zellen, die unter ungünstigen Bedingungen die Geißeln abgeworfen haben, können sie, in günstigeres Milieu zurückversetzt, ein zweites und unter Umständen ein drittes Mal bilden.

Geißellose Agarzellen bilden bei Zugabe von Wasser in kurzer Zeit bewegungsfähige Geißeln, im Dunkeln wie im Licht, und im Licht entstandene Geißeln bleiben im Dunkeln viele Stunden lang beweglich.

Phototaktisch reagierende Schwärmer legen bei Zimmertemperatur in 1 sec etwa das 10fache ihrer Körperlänge zurück, die etwa 10 μ beträgt; die Geißeln sind durchschnittlich $1^1/_3$mal so lang wie der Körper.

Bei Temperaturen über 37° werden keine Geißeln mehr gebildet, und ausgebildete Geißeln werden geschädigt; 40° werden nur für Minuten vertragen.

Die Geißelbildung wird gehemmt und fertige Geißeln werden geschädigt bei p_H-Werten unter 5,7 und über 9,8.

Die Geschwindigkeit des Geißelwachstums, beobachtet bis zur Erreichung der Körperlänge, nimmt mit der Zeit etwas zu. Also wird die wachsende Zone mit der Zeit wohl etwas länger. Gemessen wurde die Geißellänge an mit Osmiumsäuredämpfen fixierten Zellen.

Die Wachstumsgeschwindigkeit ist in der Weise von der Temperatur abhängig, daß die Erzeugung körperlanger Geißeln bei 5° C ~5 Std, bei 20° ~$^3/_4$ Std, bei 30° ~$^1/_2$ Std, bei 35° ~$^3/_4$ Std erfordert.

Die chemotaktische Empfindlichkeit ist nicht sehr ausgeprägt, und weil fast immer Erscheinungen der Anlockung und der Abstoßung nebeneinander herzulaufen scheinen, ist die Beurteilung oft schwer. Immerhin sind gute positive Reaktionen beobachtet worden vor allem gegen Fleischextrakt und gegen Nitrate. Schwach und z. T. fraglich ist die anlockende Wirkung von Kaliumchlorid, Kaliumsulfat, primärem und sekundärem Kaliumphosphat, einigen Zuckern (Maltose, Lactose, Cellobiose, Glucose), Glykokoll und dl-α-Alanin. Ziemlich indifferent verhalten sich die Schwärmer gegen mäßige Konzentrationen von Glycerin.

Ausgesprochen abstoßend wirken Essigsäure, Na-Acetat, Aceton, Methyl-, Äthyl-, tert. Amyl- und Allylalkohol.

Die von MOEWUS für die Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit erdachte aber allgemein verwendete Methode der Prüfung auf Chemotaxis ist unzweckmäßig.

Seine Angaben über die Wirkung der auch von uns geprüften Stoffe stehen größtenteils im Widerspruch zu unseren eigenen Erfahrungen.

Was MOEWUS über die chemotaktische Wirkung des Crocins und der beiden Crocetindimethylester berichtet, wurde nicht experimentell nachgeprüft, sondern nur kritisch betrachtet.

Literatur

BOLTE, E.: Über die Wirkung von Licht und Kohlensäure auf die Beweglichkeit grüner und farbloser Schwärmer. Jb. wiss. Bot. **59**, 287—342 (1920). — CZURDA, V.: Über die Variabilität von Chlamydomonas eugametos MOEWUS. Beih. bot. Cbl. A **53**, 133—157 (1935). — DELORY, G. E., and E. J. KING: Zit. in Methods in Enzymology vol. I, edit. by S. P. COLOWICK and N. O. KAPLAN.

New York. 1955. — Fischer, A.: Über die Geißeln einiger Flagellaten. Jb. wiss. Bot. **26**, 187—235 (1894). — Untersuchungen über Bakterien. Jb. wiss. Bot. **27**, 1—163 (1895). — Förster, H., u. L. Wiese: Untersuchungen zur Kopulationsfähigkeit von Chlamydomonas eugametos. Z. Naturforsch. **9**b, 470—471 (1954). — Francé, R.: Die Polytomeen, eine morphologisch-entwicklungsgeschichtliche Studie. Jb. wiss. Bot. **26**, 295—378 (1894). — Frank, Th.: Kultur und chemische Reizerscheinungen der Chlamydomonas tingens. Bot. Ztg **62**, 153—187 (1904). — Gerloff, J.: Beiträge zur Kenntnis der Variabilität und Systematik der Gattung Chlamydomonas. Arch. Protistenk. **94**, 311—502 (1940). — Kusano, S.: Studies on the chemotactic and other related reactions of the swarmspores of Myxomycetes. J. Coll. Agric. Imp. Univ. Tokyo **2**, 1—103 (1909). — Lewin, R. A.: Studies on the flagella of Algae. II. Formation of flagella by Chlamydomonas in light and darkness. Ann. Acad. Sci. New York **56**, 1091—1093 (1943). — Massart, H.: Sensibilité et adaptation des organismes à la concentration des solutions salines. Arch. Biol. (Liège) **9** (1889). Zit nach Rothert 1901, S. 409. — Metzner, P.: Studien über die Bewegungsmechanik der Spermatozoiden. Beitr. allg. Bot. **2**, 435—499 (1923). — Moewus, F.: Neue Chlamydomonaden. Arch. Protistenk. **75**, 284—296 (1931). — Untersuchungen über die Variabilität von Chlamydomonas. Arch. Protistenk. **80**, 128—171 (1933a). — Untersuchungen über die Sexualität und Entwicklung von Chlorophyceen. Arch. Protistenk. **80**, 469—526 (1933b). — Methodik und Nachträge zu den Kreuzungen zwischen Polytoma-Arten und zwischen Protosiphon-Rassen. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **73**, 63—107 (1937). — Carotinoide als Sexualstoffe von Algen. Jb. wiss. Bot. **86**, 753—783 (1938). — Über die Chemotaxis von Algengameten. Arch. Protistenk. **92**, 485—526 (1939). — Geißelbildung und Beweglichkeit bei Chlamydomonas. Naturwiss. **31**, 420 (1943). — Pfeffer, W.: Locomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize. Unters. bot. Inst. Tübingen **1**, 363—482 (1884). — Über chemotaktische Bewegungen von Bakterien, Flagellaten und Volvocineen. Unters. bot. Inst. Tübingen **2**, 582—661 (1888). — Pringsheim, E. G.: Die Reizbewegungen der Pflanzen. Berlin 1912. — Das Zustandekommen der taktischen Reaktionen. Biol. Zbl. **32**, 337—365 (1913). — Zur Physiologie saprophytischer Flagellaten. Beitr. allg. Bot. **2**, 88—137 (1921). — Methods for the cultivation of Algae. Manual of Phycology, Waltham, USA. 1951. — Pringsheim, E. G., u. F. Mainx: Untersuchungen an Polytoma uvella Ehrenberg, insbesondere über Beziehungen zwischen chemotaktischer Reizwirkung und chemischer Konstitution. Planta (Berl.) **1**, 583—623 (1926). — Renner, O.: Auch etwas über F. Moewus, Forsythia und Chlamydomonas. Z. Naturforsch. **13**b, 399—403 (1958). — Romeis, B.: Mikroskopische Technik, 15. Aufl. München 1948. — Rothert, W.: Die Entwicklung der Sporangien bei den Saprolegnieen. Cohns Beitr. Biol. Pflanz. **5**, 291—349 (1892). — Strugger, S.: Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Speicherung und Wanderung des Fluoreszeinkaliums in pflanzlichen Geweben. Flora (Jena) **132**, 253—304 (1937/38). — Úlehla, V.: Ultramikroskopische Studien über Geißelbewegung. Biol. Zbl. **31**, 645—654, 657—676, 689—705, 721—731 (1911).

Dr. Malvine Hagen-Seyfferth,
Heiligenberg i. Baden, Institut

Planta 53, 402—411 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover
und dem Botanischen Institut der Universität Würzburg

ÜBER DEN ZUSAMMENHANG VON GLYKOLSÄURE UND LICHTABHÄNGIGER PHOSPHORYLIERUNG*

Von
GÜNTER JACOBI

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 9. März 1959)

I. Einleitung

Einer der wesentlichsten Beiträge in der Photosyntheseforschung der letzten Jahre ist die Entdeckung der lichtabhängigen Bildung energiereicher Phosphatbindungen (KANDLER 1950, STREHLER 1952, SIMONIS u. GRUBE 1952, ARNON u. Mitarb. 1954, 1955, 1956). Die Bedeutung der Phosphorylierung für den Gesamtablauf des Photosynthesegeschehens darf nach den kürzlich veröffentlichten Ergebnissen über die Leistungsfähigkeit isolierter Chloroplasten als gesichert gelten (ALLEN, WHATLEY und ARNON 1958). Demnach liefern isolierte Chloroplasten unter geeigneten Bedingungen im Licht wesentlich mehr ATP an als isolierte Mitochondrien bei der oxydativen Phosphorylierung. Obwohl zwar auch in vivo ein Ansteigen löslicher organischer Phosphatverbindungen im Licht beobachtet wurde (SIMONIS u. Mitarb. 1956), läßt sich über das Potential der ATP-Bildung im Licht im intakten Organismus wenig aussagen, da die stationäre ATP-Konzentration von der Geschwindigkeit der Folgereaktionen bestimmt wird. Aus den Untersuchungen über den Atmungsstoffwechsel ist weiterhin bekannt, daß ATP sehr unspezifisch ist und in vielen Reaktionen des Stoffwechsels eingreift. Auch die aus der Photosynthesephosphorylierung resultierenden energiereichen Phosphatbindungen werden vermutlich in mehreren Reaktionen auf dem Wege zur Zuckersynthese verwendet. Daß nach kurzfristiger Einlagerung mit ^{32}P bei Belichtung eine große Zahl von Verbindungen markiert wird, ließ sich durch chromatographische Untersuchungen an *Helodea* und *Ankistrodesmus* nachweisen (SIMONIS u. Mitarb. 1957, 1958).

Das sich daraus ergebende Problem ist nun vor allem, die bei der lichtabhängigen Phosphorylierung in Frage kommenden Phosphatacceptoren zu erfassen. Nach den bisherigen Untersuchungen sind dies lediglich Ribulose-5-Phosphat und 3-Phosphoglycerinsäure. Wir haben Versuche unter Zusatz von Glykolsäure bei *Ankistrodesmus* durchgeführt, über die in der vorliegenden Arbeit berichtet wird.

* Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. C. HOFFMANN, Kiel, in Verehrung und Dankbarkeit zum 60. Geburtstag gewidmet.

II. Material und Methodik

Es wurden Dauerlichtkulturen von *Ankistrodesmus braunii* entsprechend der bereits früher von SIMONIS u. Mitarb. mitgeteilten Anordnung in der Nährlösung von KANDLER (1950) gezogen. Die zum Versuch verwendete Algensuspension wurde 5 Tage vor dem Versuch mit frischer Nährlösung versorgt und 3 Tage vorher nach Zentrifugieren in einem P-freien Nährmedium suspendiert und 12 Std vor Versuchsbeginn verdunkelt. Einzelheiten bei SIMONIS und KATING (1956) sowie SCHWINCK (1956). Auch die Einlagerung mit trägerfreier ^{32}P-haltiger Orthophosphorsäure sowie die weitere Aufarbeitung und Trennung in gesamt-TES-lösliches (TES = Trichloressigsäure), organisch-lösliches und TES-unlösliches oder gebundenes Phosphat ist ebenfalls übernommen worden.

Die Glykolsäure war ein kristallisiertes Produkt der Firma Fluka. Die Lösung wurde stets mit NaOH auf p_H 5,3 eingestellt.

Der bei den Untersuchungen über die p_H-Abhängigkeit verwendete Piperacinpuffer wurde nach SMITH und SMITH (1949) hergestellt. Piperacinhexahydrat wurde nach den dort gegebenen Vorschriften zum Dihydrochlorid umkristallisiert.

III. Die Versuche

1. Abhängigkeit der ^{32}P-Einlagerung unter Zusatz von Glykolsäure vom p_H. Auf die Bedeutung des p_H für die Einlagerung mit ^{32}P sowie die damit verbundene Veränderung der Phosphorylierungsrate ist kürzlich hingewiesen worden (SIMONIS und JACOBI 1959). Es wurde gezeigt, daß bei kleiner Einlagerung der Anteil an organisch-löslichen Verbindungen gering ist. Diese Verhältnisse wurden besonders bei den Untersuchungen im Bereich von p_H 3,5 und 4,5 beobachtet.

Im folgenden sind die Ergebnisse für die P^{32}-Aufnahme unter Zusatz von Glykolsäure wiedergegeben. Da, wie bei den Versuchen ohne Glykolsäure, keine Übereinstimmung in den Absolutwerten erreicht wurde, ist die erzielte Aufnahme an ^{32}P in den einzelnen Versuchen zueinander in Beziehung gesetzt worden. Der Wert für Phthalat p_H 5,53 ist hier mit 100 angegeben, und die übrigen Daten sind dazu in Relation gebracht worden. Glykolsäure in einer Endkonzentration von 10^{-3} mol wurde gleichzeitig mit der Aktivität

Tabelle 1. *Einfluß des p_H auf die Einlagerung von ^{32}P in Ankistrodesmus unter Zusatz von Glykolsäure. Bedingungen: 5 min Vorbelichtung und 2 min Einlagerung mit 400000 IpM + 2 γ ^{31}P*

Puffer	p_H	Gesamteinlagerung (Phthalat p_H 5,53 = 100)	Relativer Anteil der organisch-löslichen Fraktion an der Gesamteinlagerung
Phthalat .	5,53	100	25,2
Piperacin .	6,52	173	30,9
TRIS . . .	7,50	337	42,4
Borat . . .	7,52	336	44,2
TRIS . . .	8,45	330	39,8
Borat . . .	8,51	256	43,4
TRIS . . .	9,45	213	34,0
Ohne[1] . . .		257	36,0

[1] Das p_H der Algensuspension betrug nach 5 min Belichtung durchschnittlich 8,1.

zugegeben. Ein Einfluß der auf p_H 5,3 eingestellten Glykolsäurelösung auf das p_H des gepufferten Systems machte sich nicht bemerkbar. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Das Maximum der ^{32}P-Aufnahme unter Zusatz von Glykolsäure wurde im Bereich von p_H 7,5—8,5 gemessen. Auch die Anteilsverhältnisse der organisch-löslichen Fraktion erreichen hier ihre höchsten Werte. Diese sind, wie in folgenden Zusammenstellungen ersichtlich wird, wesentlich höher als ohne Glykolsäure.

2. Einfluß von Glykolsäure auf die Markierung der einzelnen Phosphatfraktionen. Bereits in den Versuchen über den Einfluß des p_H wurde eine Förderung der P-Aufnahme und der Phosphorylierung nach Glykolsäuregaben gemessen. Die hier interessierende Frage war, ob es sich um einen lichtabhängigen Prozeß handelt und unter welchen Bedingungen dieser Effekt noch zu erfassen ist.

Wir haben zunächst Glykolsäure in einer Endkonzentration von 10^{-3} mol zusammen mit Aktivität 5 min einwirken lassen und die Versuche im Licht und im Dunkeln durchgeführt. Das Ergebnis eines dieser Versuche ist in Tabelle 2 wiedergegeben.

Tabelle 2. *Einlagerung von ^{32}P unter Zusatz von Glykolsäure. Mittelwerte aus 4 Einlagerungen. Angabe in Impulse pro Minute pro 100 mg Trockengewicht $\times 10^3$*

	Gesamteinlagerung	Dunkel ohne Glykolsäure = 100	Gebunden	Gesamt-TES-lösliches P	Organisch-lösliches P	Dunkel ohne Glykolsäure = 100	Relativer Anteil an Gesamteinlagerung
Ohne Glykolsäure:							
Licht	1225	110	546	708	352	181	28,1
Dunkel	1111	100	536	575	194	100	17,4
Mit Glykolsäure:							
Licht	4317	388	1340	2977	1762	690	40,8
Dunkel	3034	273	1015	2018	658	378	21,7

Sowohl im Licht- wie im Dunkelversuch steigert Glykolsäure also die ^{32}P-Aufnahme. Auch die organisch-lösliche Fraktion zeigt, relativ zum Dunkelwert ohne Glykolsäure, eine Förderung der Einlagerung bei Licht und Dunkel. Der relative Anteil dieser Fraktion erfährt jedoch nur im Licht eine Zunahme.

Um die Dunkelwirkung zu reduzieren, wurden die Einlagerungszeiten weiter verkürzt. Wir sind mit den Inkubationszeiten bis auf 1 min heruntergegangen und konnten noch nach dieser Zeit eine Glykolsäurewirkung feststellen, wie es aus Tabelle 3 ersichtlich wird.

Auch hier erfolgt eine gesteigerte Einlagerung im Dunkeln, die aber, gemessen an der 5 min-Inkubation, nicht so stark ist. Ein Anstieg der organisch-löslichen Fraktion ist hier bei Glykolsäurezusatz nur noch im Licht zu beobachten; genauso verhält sich die relative Zunahme dieser Fraktion. Die verschiedenen Versuche zeigten unter diesen Bedingungen

Tabelle 3. *Einlagerung von ^{32}P unter Zusatz von Glykolsäure bei einer Einwirkungsdauer von 1 min*

	Gesamteinlagerung	Dunkel ohne Glykolsäure = 100	Gebunden	Gesamt-TES-lösliches P	Organisch-lösliches P	Dunkel ohne Glykolsäure = 100	Relativer Anteil an Gesamteinlagerung
Ohne Glykolsäure:							
Licht	773	104	128	644	260	195	39,0
Dunkel	741	100	125	616	133	100	21,7
Mit Glykolsäure:							
Licht	1512	204	132	1376	677	507	49,2
Dunkel	923	124	103	819	140	105	17,2

eine Steigerung in der Markierung der organisch-löslichen Fraktion von 450—630% relativ zum Dunkelversuch ohne Glykolsäure.

Unbefriedigend bei all diesen Versuchen war die Tatsache, daß unter Glykolsäurezusatz stets eine geförderte Einlagerung auch im Dunkeln erfolgt. Es konnte deshalb nicht entschieden werden, ob die Zunahme des organisch-löslichen Phosphates durch Glykolsäure nur sekundärer Natur ist, d. h. ob das größere P-Angebot zu einer gesteigerten Phosphorylierung führt, wie es im gleichen Maße für Borat der Fall ist (Simonis und Jacobi 1959). Wir haben daher nach Bedingungen gesucht, unter denen die geförderte P-Aufnahme im Dunkeln ausgeschaltet ist. Dies konnte durch Verminderung der Glykolsäurekonzentration erreicht werden. Die Endkonzentration wurde auf 10^{-4}, 10^{-5} und 10^{-6} mol reduziert. Während noch eine 10^{-4} mol-Endkonzentration eine gesteigerte P-Aufnahme erkennen läßt, ist bei Inkubation mit 10^{-5} mol über 2 min Einlagerungsdauer keine Dunkelwirkung mehr festzustellen (Tabelle 4). Eine 10^{-6} mol-Lösung gibt auch keine sichtbaren Lichtunterschiede mehr.

3. Phosphatzustand der Algen. Hinsichtlich des Zusammenhanges von Glykolsäure und Photosynthese sind vor allem Untersuchungen von Tolbert und Zill durchgeführt worden. Diese Autoren beobachteten, daß Glykolsäure von *Chlorella* im Licht ausgeschieden wird und daß die Exkretion nur unter aeroben Bedingungen sowie in Gegenwart von Bicarbonat erfolgt. Ein für die Betrachtung des Zusammenhanges von Photosynthese und Phosphathaushalt bedeutsamer Befund ist vor allem die Unterbindung der Ausscheidung durch steigende Phosphatgaben.

In der von uns angewandten Methode wurden die Algen 3 Tage vor dem Versuch in eine P-freie Nährlösung überführt, um eine größere Einlagerung von ^{32}P zu erreichen. Durch diese Art der Vorbehandlung wird es schwierig, eine Aussage über den Einfluß des P-Zustandes der Algen auf die Glykolsäurewirkung zu machen. Wir haben daher die Algensuspensionen unter normaler und überschüssiger Phosphatkonzentration 6 Tage wachsen lassen und dann in üblicher Form 3 Tage P-frei gesetzt.

Tabelle 4. *Einlagerung von ^{32}P unter Zusatz von Glykolsäure in einer Endkonzentration von 10^{-5} mol. Bedingungen: 2 min Einlagerung + 2 γ ^{31}P als K_2HPO^4*

	Gesamteinlagerung	Dunkel ohne Glykolsäure = 100	Gebunden	Gesamt-TES-lösliches P	Organisch-lösliches P	Dunkel ohne Glykolsäure = 100	Relativer Anteil an Gesamteinlagerung
Ohne Glykolsäure:							
Licht	3615	113	1610	2005	448	276	7,8
Dunkel	3190	100	1580	1610	162	100	5,1
Mit Glykolsäure:							
Licht	3654	115	1379	2275	698	430	11,8
Dunkel	3218	101	1324	1894	153	95	3,0

Es wurden dann Vergleiche mit beiden Kulturen hinsichtlich der Markierung der einzelnen Fraktionen durchgeführt. Da die Einlagerung bei der P-Überschußkultur kleiner war und daher die absoluten Werte nicht miteinander verglichen werden können, sind die Einlagerungszahlen in Tabelle 5 nur relativ angegeben.

Tabelle 5. *^{32}P-Einlagerung mit Glykolsäure bei unterschiedlicher Voranzucht mit Phosphat. Bedingungen: Nach 5 min Licht oder Dunkel Zugabe von 400000 IpM sowie 2 γ ^{31}P + Glykolsäure in einer Endkonzentration von 10^{-3} mol. Angaben in Prozent des Dunkelversuches ohne Glykolsäure*

	Gesamteinlagerung	Gesamt-TES	Gebunden	Organisch-löslich
a) Normal (Endkonzentration der Nährlösung an Phosphor $0{,}735 \times 10^{-3}$ mol)				
Ohne Glykolsäure:				
Licht	103	102	92	151
Dunkel	100	100	100	100
Mit Glykolsäure:				
Licht	153	184	114	*364*
Dunkel	133	147	133	129
b) P-Überschuß ($2{,}94 \times 10^{-3}$ mol Phosphor)				
Ohne Glykolsäure:				
Licht	98	97	83	170
Dunkel	100	100	100	100
Mit Glykolsäure:				
Licht	201	224	119	*541*
Dunkel	152	159	142	149

Aus der Gegenüberstellung beider Versuchsanstellungen in Tabelle 5 wird ersichtlich, daß mit steigender P-Zufuhr Glykolsäure zu einer relativen Zunahme von organisch-löslichen P-Verbindungen führt.

Weitere Untersuchungen mit dem gleichen Ergebnis sind die mit und ohne ^{31}P-Zusatz durchgeführten Einlagerungen. In Tabelle 6 ist aus einem Versuch an einer Algenkultur unter normaler P-Ernährung und üblicher Vorbehandlung die Aktivität in der organisch-löslichen Fraktion in relativen Angaben zusammengestellt.

Damit drückt sich in unseren Versuchen ein deutlicher Zusammenhang von Phosphathaushalt und Photosynthesephosphorylierung aus. Bei größerer P-Zufuhr, sei es durch erhöhte P-Gaben vor der Verarmung oder während der Einlagerung, wird in Gegenwart von Glykolsäure eine stärkere Markierung der organisch-löslichen Fraktion beobachtet.

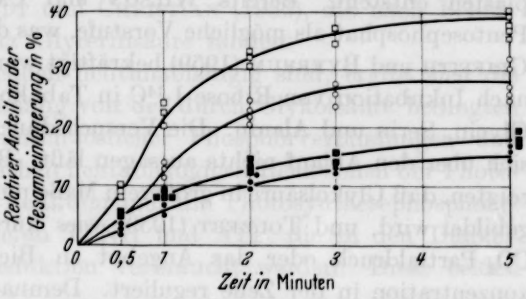

Abb. 1. Zunahme der Markierung der organisch-löslichen Fraktion in Prozent der Gesamteinlagerung. Zeichenerklärung: ○——○ Licht ohne Glykolsäure; ●——● Dunkel ohne Glykolsäure; □——□ Licht mit Glykolsäure; ▪——▪ Dunkel mit Glykolsäure

4. Induktionsperiode. Die bisher dargestellten Versuche behandeln nur den Einfluß der Glykolsäure auf die Markierung der einzelnen Fraktionen im stationären Zustand der Photosynthese. Im folgenden sind Ergebnisse über ihre Wirkung in der Induktionsphase wiedergegeben. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf die relativen Anteilsverhältnisse an der Gesamteinlagerung gelegt, deren Markierung über einen Zeitraum von $^1/_2$—5 min hin verfolgt wurde. Wir fanden dabei vor allem einen charakteristischen Verlauf der Markierung der organisch-löslichen Fraktion, der in Abb. 1 wiedergegeben ist.

Tabelle 6. *^{32}P-Aktivität in der organisch-löslichen Fraktion. Relative Angaben. Dunkel ohne Glykolsäure = 100*

	Ohne ^{31}P	Plus ^{31}P
Ohne Glykolsäure:		
Licht	116	121
Dunkel	100	100
Mit Glykolsäure:		
Licht	246	*461*
Dunkel	95	142

Hier geht deutlich hervor, daß bereits nach 1 min unter Zusatz von Glykolsäure eine Steigerung im Licht erfolgt, die sich nach 5 min ungefähr dem Wert von 40% nähert, den wir nach Glykolsäuregaben allgemein in der stationären Phase fanden.

Diskussion

Zu den ersten bei der Photosynthese gebildeten Verbindungen gehört Glykolsäure (Benson und Calvin 1950). Die in der Zelle vorliegende Konzentration der im Licht gebildeten Glykolsäure ist so groß, daß sie unter bestimmten Bedingungen ausgeschieden wird (Tolbert und Zill 1956). Glykolsäure scheint demnach ein stabiles Endprodukt eines Seitenweges des Photosynthesecyclus zu sein, dessen Mechanismus bis heute noch nicht eindeutig geklärt ist. Als Bildungsstätte kann nach Tolbert (1959) der Chloroplast angesehen werden, von dem Glykolsäure

als einzige Verbindung in das Cytoplasma ausgeschieden wird. Die Vorstufe sollte also in einer Verbindung zu suchen sein, die im Chloroplasten entsteht. Bereits WILSON und CALVIN (1955) diskutierten Pentosephosphat als mögliche Vorstufe, was durch Untersuchungen von GRIFFITH und BYERRUM (1959) bekräftigt wurde. Diese Autoren fanden nach Inkubation von Ribose-1-^{14}C in Tabakblättern Glykolsäure neben Glycin, Serin und Alanin. Die Versuchsdauer war jedoch so groß, daß sich über den Ablauf nichts aussagen läßt. BENSON und CALVIN (1950) zeigten, daß Glykolsäure in größerem Maße nur in CO_2-freier Atmosphäre gebildet wird, und TOLBERT (1959) wies kürzlich darauf hin, daß der CO_2-Partialdruck oder das Angebot an Bicarbonat die Glykolsäurekonzentration in der Zelle reguliert. Demnach wird bei kleinem CO_2-Partialdruck das Pentosephosphat nicht carboxyliert, sondern wahrscheinlich in Phosphoglycerinsäure und einen C_2-Körper gespalten, der in Glykolsäure übergeht. Ungelöst bleibt bei diesem Ablauf die Frage, wie bei CO_2-Mangel das Pentosephosphat entsteht, da der Cyclus unterbrochen ist und eine Regeneration nicht erfolgen kann.

Die sich aus unseren Untersuchungen ergebende Frage ist die nach der weiteren Umsetzung der Glykolsäure, wobei in erster Linie die phosphorylierten Verbindungen interessieren. Nach Inkubation mit C_1- und C_2-markierter Glykolsäure wurde von SCHOU, BENSON, BASSHAM und CALVIN (1950) vornehmlich Glycin und Serin sowie Phosphoglycerinsäure gefunden. TOLBERT und COHAN (1953) fanden nur Glycin und Serin.

Hinsichtlich des Stoffwechsels der Glykolsäure sind in den letzten Jahren mehrere Arbeiten erschienen, die völlig neue Reaktionswege eröffneten. Der Umsatz erfolgt in erster Linie über die von ZELITCH und OCHOA (1953) isolierte und von FRIDERIGO und HARBURG (1958) kristallisierte Glykolsäureoxydase zu Glyoxylsäure. Dieses Ferment wird nach TOLBERT und COHAN (1953) im Licht aktiviert, wobei es sich jedoch um eine Substrataktivierung im Sinne einer adaptiven Enzymbildung handelt. ZELITCH (1958) sowie DELAWAN und BENSON (1959) messen diesem Enzym eine Bedeutung in der Lichtatmung zu. Daß jedoch auch Wurzeln unter bestimmten Voraussetzungen eine Glykolsäureoxydaseaktivität aufweisen, wurde von MOTHES und WAGNER (1957) gezeigt. Die gebildete Glyoxylsäure kann über den Krebs-Kornberg-Cyclus (1957) in Äpfelsäure und von dort über das malic enzyme in Brenztraubensäure übergehen. Beide Verbindungen können phosphoryliert werden und führen zu den bekannten Phosphatestern der Glykolyse.

Als weitere Möglichkeit des Glykolsäureumsatzes sei noch die Reduktion zu Glykolaldehyd über eine Aldehyd-Dehydrogenase diskutiert (SEEGMILLER 1953). Aus Glykolaldehyd wird durch Carboxylierung Hydroxybrenztraubensäure (HOLZER, GOEDDE und SCHNEIDER 1955), aus der durch Dehydrierung D-Glycerinsäure gebildet werden kann (STAFFORT, MAGALDI und VENNESLAND 1954, HOLZER und HOLLDORF

1957). Letztere führt über eine Glyceratkinase direkt zu 3-Phosphoglycerinsäure. Erwähnenswert ist in diesem Zusammenhang der Befund von LIEBERMANN, RAMSTEDT und CHRISTIAN (1956), die nach Belichtung und Glykolsäurezusatz Glycerinsäure fanden.

Da diese Reaktionen jedoch lichtunabhängig sind, ergibt sich die Frage nach dem Zusammenhang von der durch Glykolsäure bedingten stärkeren Markierung organisch-löslicher Phosphorverbindungen und Photosynthese. Die eigentlichen lichtabhängigen Reaktionen der Photosynthese sind nur die Hill-Reaktion und die Photosynthesephosphorylierung. Aus ihnen resultieren TPNH und ATP, die in den Dunkelreaktionen bei der CO_2-Reduktion verbraucht werden. Diese beiden

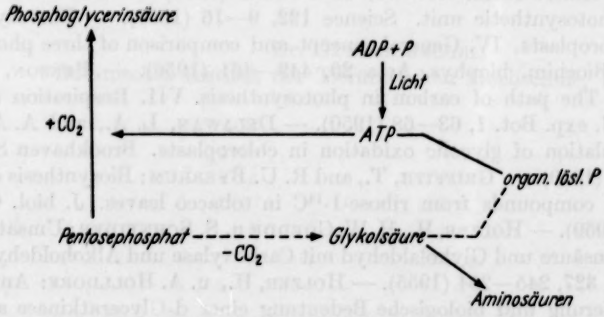

Abb. 2. Schematische Darstellung des Zusammenhanges von Glykolsäureumsatz und Photosynthesephosphorylierung

Verbindungen oder eine dieser sollten demnach auch die Weiterverarbeitung der Glykolsäure bestimmen. Unsere Ergebnisse lassen sich dahingehend erklären, daß eines der Folgeprodukte der Glykolsäure als Phosphatakzeptor fungiert. Die Geschwindigkeit der lichtabhängigen ATP-Bildung ist vom Phosphatzustand der Zelle abhängig und beeinflußt damit auch indirekt die Phosphorylierung dieser Verbindung. Nach TOLBERT und ZILL (1956) wird die Ausscheidung der Glykolsäure durch steigende Phosphatgaben reduziert, während die hier vorgelegten Ergebnisse zeigen, daß ein erhöhter Phosphatspiegel in den Algen zu einem Anstieg an organisch-löslichen Phosphorverbindungen führt.

In Abb. 2 sind die diskutierten Zusammenhänge schematisch wiedergegeben. Die Bildung der Glykolsäure wird demnach von der CO_2-Spannung und die Umsetzung von der ATP-Konzentration bestimmt.

Zusammenfassung

Glykolsäure fördert im Licht die Aufnahme von ^{32}P und die Markierung der organisch-löslichen Fraktion in *Ankistrodesmus braunii*. Der relative Anteil der organisch-löslichen Fraktion an der Gesamteinlagerung wird durch steigenden Phosphatgehalt der Zelle erhöht. Die Ergebnisse werden dahingehend diskutiert, daß Glykolsäure oder eine

aus ihr resultierende Verbindung durch das bei der Photosynthese-phosphorylierung angelieferte ATP phosphoryliert wird.

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Für die technische Unterstützung danke ich Fräulein M. MAIKOWSKI und Fräulein G. GOERTZEN.

Literatur

ALLEN, M. B., F. R. WHATLEY and D. I. ARNON: Photosynthesis by isolated chloroplasts. VI. Rates of conversion of light into chemical energy in photosynthetic phosphorylation. Biochim. biophys. Acta **27**, 16 (1958). — ARNON, D. I., M. B. ALLEN and F. R. WHATLEY: Photosynthesis by isolated chloroplasts. Nature (Lond.) **174**, 394—396 (1954). — Photosynthesis by isolated chloroplasts. II. Photosynthetic phosphorylation, the conversion of light into phosphate bond energy. J. Amer. chem. Soc. **76**, 6324—6329 (1954). — The chloroplasts as a complete photosynthetic unit. Science **122**, 9—16 (1955). — Photosynthesis by isolated chloroplasts. IV. General concept and comparison of three photochemical reactions. Biochim. biophys. Acta **20**, 449—461 (1956). — BENSON, A. A., and M. CALVIN: The path of carbon in photosynthesis. VII. Respiration and photosynthesis. J. exp. Bot. **1**, 63—68 (1950). — DELAWAN, L. A., and A. A. BENSON: Light stimulation of glycolic oxidation in chloroplasts. Brookhaven Symp. Biol. No 11, 259 (1959). — GRIFFITH, T., and R. U. BYERRUM: Biosynthesis of glycolate and related compounds from ribose-1-^{14}C in tobacco leaves. J. biol. Chem. **234**, 762—764 (1959). — HOLZER, H., H. W. GOEDDE u. S. SCHNEIDER: Umsatz von Oxybrenztraubensäure und Glykolaldehyd mit Carboxylase und Alkoholdehydrogenase. Biochem. Z. **327**, 245—254 (1955). — HOLZER, H., u. A. HOLLDORF: Anreicherung, Charakterisierung und biologische Bedeutung einer d-Glyceratkinase aus Rattenleber. Biochem. Z. **329**, 283—291 (1957). — Isolierung von d-Glyceratdehydrogenase, einige Eigenschaften des Enzyms und seine Verwendung zur enzymatisch-optischen Bestimmung von Hydroxypyruvat neben Pyruvat. Biochem. Z. **329**, 292—312 (1957). — KANDLER, O.: Über die Beziehungen zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese. I. Z. Naturforsch. **5b**, 423—437 (1950). — KORNBERG, H. L., and H. A. KREBS: Synthesis of cell constituents from C_2-units by a modified tricarboxylic acid. Nature (Lond.) **179**, 988 (1957). — LIEBERMANN, H., E. RAMSTEDT and J. E. CHRISTIAN: Study of glycolic acid metabolism in *Bryophyllum calycinum* Salisb. J. Amer. Pharm. Ass., sci. Ed. **45**, 295—300 (1956). — MOTHES, K., u. A.-N. WAGNER: Über die Aktivität der Glykolsäure-Dehydrogenase insbesondere in Wurzeln. Biochimia **22**, 171—177 (1957). — SCHOU, L., A. A. BENSON, J. A. BASSHAM and M. CALVIN: The path of carbon in photosynthesis. XI. The role of glycolic acid. Physiol. Plantarum (Kbh.) **3**, 487—495 (1950). — SIMONIS, W., u. K. H. GRUBE: Untersuchungen über den Zusammenhang von Phosphathaushalt und Photosynthese. Z. Naturforsch. **7b**, 194—196 (1952). — Weitere Untersuchungen über Phosphathaushalt und Photosynthese. Z. Naturforsch. **8b**, 312—317 (1953). — SIMONIS, W., u. H. KATING: Untersuchungen zur lichtabhängigen Phosphorylierung von Algen durch Glucosegaben. Z. Naturforsch. **11b**, 165—172 (1956). — SIMONIS, W., H. KATING u. G. KUES: Methodische Fragen zur Extraktion und Papierchromatographie von ^{32}P-markierten Verbindungen aus Algen. Z. Naturforsch. **12b**, 812—813 (1957). — SIMONIS, W., u. G. WEICHART: Quantitative Unterschiede der Bildung von ^{32}P-markierten phosphorylierten Verbindungen in *Helodea*. Z. Naturforsch. **13b**, 55—56 (1958). — SMITH, M. E., and L. B. SMITH: Piperazine hydrochloride and glycylglycine as non-toxic buffers in distilled water and in sea water. Biol. Bull. **96**, 233 (1949). — STAFFORT, H. A., A. MAGALDI and B. VENNESLAND: The enzymatic reduction of hydroxy-

pyruvic acid to d-glyceric acid in higher plants. J. biol. Chem. **207**, 621—629 (1954). — STREHLER, B. L.: Photosynthesis-energetics and phosphate metabolism. In: Phosphorus Metabolism, vol. II, p. 491—506, edit. W. D. MCELROY and B. GLASS. Baltimore 1952. — TOLBERT, N. E.: Secretion of glycolic acid by chloroplasts. Brookhaven Symp. Biol. No 11, 271 (1959). — TOLBERT, N. E., and M. S. COHAN: Activation of glycolic acid oxydase in plants. J. biol. Chem. **204**, 639—648 (1953). — Products formed from glycolic acid in plants. J. biol. Chem. **204**, 649—654 (1953). — TOLBERT, N. E., and L. P. ZILL: Excretion of glycolic acid by algae during photosynthesis. J. biol. Chem. **222**, 895—906 (1956). — VISHNIAC, W.: Biochemical aspects of photosynthesis. Ann. Rev. Plant Physiol. **6**, 115—134 (1955). — ZELITCH, I.: The role of glycolic acid oxidase in the respiration of leaves. J. biol. Chem. **233**, 1299—1303 (1958). — ZELITCH, J., and S. OCHOA: Oxydation and reduction of glycolic and glyoxylic acids in plants. I. Glycolic acid oxydase. J. biol. Chem. **201**, 707—718 (1953).

Dr. GÜNTER JACOBI,
Botanisches Institut der Tierärztlichen Hochschule, Hannover

Planta 53, 412—433 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Rostock

ÜBER DIE PERZEPTION DES PHOTOTROPEN REIZES

Von

HERMANN V. GUTTENBERG

(Unter Auswertung von Versuchen von BRIGITTE POLITT)

(Eingegangen am 14. April 1959)

A. Einleitung

Nach längerer Pause häufen sich in letzter Zeit Studien über Phototropismus und Geotropismus der Pflanzen. Ziel dieser Bemühungen ist vor allem die Klärung der Frage, wie der erwiesene differente Auxingehalt beider Seiten zustande kommt. Für den Phototropismus bestehen vor allem 2 Auffassungen. Die erste nimmt, besonders bei Coleoptilen, eine lichtbedingte Querpolarisation an, die zu einem Quertransport des Auxins führt (Cholodny-Went-Theorie). Die zweite, für die schon PAÁL (1919) eintrat, betrachtet als Ursache der Krümmung eine einseitige Wuchsstoffzerstörung durch das Licht. Nach der Theorie von GALSTON (ab 1949) soll die Photolyse des Auxins unter Mitwirkung von Riboflavin auf oxydativem Wege zustande kommen. Als wichtig für die weitere Klärung des Problems sind neue Arbeiten (REINERT 1953, BRAUNER 1955) zu betrachten, in denen gezeigt wird, daß „Schattenspender" von großer Bedeutung sind, da durch sie die Lichtdifferenz beider Seiten erhöht wird. Trotz aller Bemühungen steht eine Entscheidung noch aus; auch wurde von verschiedenen Seiten darauf hingewiesen, daß noch andere Möglichkeiten der Erklärung bestehen.

Diese Unklarheit regte dazu an, das Problem weiter zu verfolgen. Insbesondere sollte durch geeignete Versuche geprüft werden, ob die Annahme, daß die phototrope Krümmung durch Auxin-Photolyse zustande komme, richtig sei. Für diese Theorie treten heute die meisten Autoren ein. Ich stand ihr von allem Anfang an skeptisch gegenüber (v. GUTTENBERG 1951). Alle anderen Tropismen kommen offenbar ohne Auxinzerstörung zustande, der Phototropismus würde ganz isoliert dastehen; auch gibt es Erfahrungen aus der älteren reizphysiologischen Forschung, die mit der Annahme einer Auxinzerstörung kaum vereinbar sind. Seit erkannt wurde, daß die tropistische „Reizleitung" auf polaren Auxintransport zurückzuführen ist, versuchte man auch den Geo- und Phototropismus ausschließlich von der Wuchsstofforschung her zu erklären; von einer phototropen „Empfindlichkeit" im eigentlichen Sinne des Wortes war kaum mehr die Rede. Vielmehr sollte lediglich das Licht das Auxin entweder zerstören oder verschieben und

damit Wachstumsverschiedenheiten an beiden Seiten hervorrufen. Anstelle der Idee einer erhöhten „Empfindlichkeit" (Erregbarkeit) der Celeoptilenspitze trat die Auffassung, daß erhöhte Lichtabsorption an dieser Stelle eine höhere Erregung nur vortäusche. Somit war ein zweites Ziel dieser Untersuchung, auch die Frage der besonderen Spitzenempfindlichkeit nochmals zu überprüfen.

B. Literaturbesprechung

Leider beachtet die Tropismenforschung seit der Entdeckung des Auxins die ältere reizphysiologische Literatur kaum mehr, obwohl die tatsächlichen Befunde Bestand haben und nur im Zusammenhang mit der Wuchsstofforschung neu zu interpretieren wären. Ich möchte daher vor der Besprechung der neueren Literatur auf einige eigene ältere Arbeiten über Tropismen hinweisen. Schon diese wenigen Beispiele werden zeigen, daß hier Probleme vorliegen, die die Auxinforschung nicht außer acht lassen kann.

In einer schon weit zurückliegenden Arbeit (v. Guttenberg 1911) unterwarf ich *Avena*-Coleoptilen der Rotation nach der von Piccard angegebenen Methode. Man erzielt durch diese eine antagonistische Fliehkraftreizung von Basis und Spitze. Eine 3 mm lange Spitzenzone zwang die viel längere und daher stärker gereizte Basis zu einer Krümmung im Sinne der Spitze. Damit war für den Geotropismus eine höhere Spitzenempfindlichkeit des Organs erwiesen und wahrscheinlich gemacht, daß es eine solche auch für den Phototropismus gäbe. Eine Analyse dieses Versuches unter Berücksichtigung der Auxinverteilung wäre eine dankbare Aufgabe. Die Reizung der Spitze verhindert offenbar eine gegensinnige „Querverschiebung" des Auxins in der Basis. Das zeigt aber, daß das abfließende Auxin einseitig „festgehalten" wird, wofür besondere physiologische Vorgänge auf dieser Seite erforderlich wären, die von der Spitze aus dirigiert werden. Danach wäre bei Tropismen doch auch eine echte Reizleitung mit im Spiele.

Für den Phototropismus konnte ich (v. Guttenberg 1922) unter anderem folgendes feststellen. Beleuchtet man Coleoptilen antagonistisch mit mäßigen Lichtmengen, so kann man ermitteln, daß die phototrope Unterschiedsempfindlichkeit 1,5—2% beträgt. Die differente Reizung durch diese minimale Lichtdifferenz ist bei der Annahme einer hohen phototropen Erregbarkeit leicht verständlich; ob auch die Photolyse beiderseits ausreichend verschieden ist, um den Effekt zu erklären, scheint mir zweifelhaft. Wenn man Licht und Schwerkraft antagonistisch einwirken läßt (Pflanze horizontal, Beleuchtung von unten) und die Lichtintensität sehr gering wählt (0,0475 HK), so kommt es (v. Guttenberg 1907) erst zu einer vorübergehenden geotropen Aufkrümmung, dann zu einer phototropen Rückkrümmung, bis schließlich die Coleoptilen horizontal weiterwachsen. Gleiches Licht führt die Pflanzen am Klinostaten zur Einstellung in die Lichtrichtung. Reizphysiologisch betrachtet läuft die geotrope Erregung der phototropen vor, die offenbar im Laufe der Zeit ansteigt, bis sie den Wert der geotropen erreicht. Auch eine Photolyse könnte allmählich ansteigen, doch bleibt wenig verständlich, wieso sie bei Erreichung der Horizontallage einen konstanten Wert annehmen sollte. Bei Kompensation der Erregung aber würde das Auxin wieder gleichmäßig abfließen, was auch nachgeprüft werden sollte. Diese Beispiele aus der älteren Literatur genügen, um zu zeigen, daß sie auch heute noch berücksichtigt werden sollten.

Schon zu Beginn der Auxinforschung versuchte ich zu klären, welche Beziehungen zwischen Erregbarkeit und Wuchsstoffwirkung bestehen, und ich ließ durch meine Schüler KOCH (1934) und DOLLFUS (1935) entsprechende Versuche durchführen. Über die phototrope Spitzenempfindlichkeit der Coleoptilen lagen damals 2 spezielle Arbeiten vor. LANGE (1927) beleuchtete die einzelnen Bezirke der Coleoptile durch schmale Lichtstreifen und bestimmte den jeweiligen Schwellenwert der phototropen Krümmung. Er fand den geringsten in der apikalen 50 μ-Zone, bis 500 μ nahmen die Schwellenwerte mäßig zu, die Empfindlichkeit nahm also entsprechend ab. Der ganze erste Spitzenmillimeter erwies sich als 160mal so empfindlich wie der zweite, und dieser 1800mal empfindlicher als der dritte. SIERP und SEYBOLD (1926) arbeiteten mit Verdunkelung der Spitze, beleuchteten also den ganzen basalen Restteil. Aus ihren Versuchen ergab sich (vgl. Tabelle 1) bei Verdunkelung von $^1/_4$, $^1/_2$ und 1 mm der Spitze eine Erhöhung

Tabelle 1 (nach KOCH)

Länge der dekapitierten Spitze bzw. der verdunkelten Spitze bei SIERP-SEYBOLD in mm	Reizschwellen ohne Wuchsstoffzufuhr (Frühlingswert) in MKS	Reizschwellen mit Wuchsstoffzufuhr (Frühlingswert) in MKS	Reizschwellen ohne Wuchsstoffzufuhr (Winterwert) in MKS	Reizschwelle von SIERP-SEYBOLD in MKS
0	3,8	—	6,3	4,45
$^1/_4$	9,4	2,8	11,4	10,68
$^1/_2$	41,8	24,8	46,9	44,5
1	456	304	486	427,20
$1^1/_2$	1900	760	2280	1068
2	200000	4560	228000	3204

des Schwellenwertes im Verhältnis 1:2:10:100, wobei 1 den Wert bei unverdunkelter Spitze darstellt. Bei Verdunkelung von 2 mm erfolgt bereits ein Anstieg der Reizschwelle auf 3200 MKS, sie ist dann mehr als 300mal so groß als bei Verdunkelung von $^1/_4$ mm. KOCH stellte entsprechende Versuche an, doch dekapitierte er die Coleoptilen anstelle der Verdunkelung in entsprechendem Ausmaß (Tabelle 1). Versorgte er solche Pflanzen mit Wuchsstoff, so erhielt er Werte, die mit jenen von SIERP-SEYBOLD weitgehend übereinstimmten. Daraus folgt erstens, daß die Verwundung bedeutungslos war, und zweitens, daß der künstlich zugeführte Wuchsstoff den normalen vollkommen ersetzte; der Abfall der phototropen Empfindlichkeit blieb unverändert. Nun beleuchteten wir solche sukzessiv dekapitierten Keimlinge in gleicher Weise *ohne* Wuchsstoffversorgung. Im ersten halben Spitzenmillimeter ergab sich kein prinzipieller Unterschied gegenüber wuchsstoffversorgten Exemplaren, im ganzen ersten Millimeter nur ein geringer. Bei Entfernung von $1^1/_2$ mm dagegen stieg die Reizschwelle gegenüber Verdunkelung bereits auf mehr als das Doppelte an, bei 2 mm dann ganz enorm. Die Interpretation dieses Ergebnisses ist folgende: Bei der Dekapitierung werden sukzessive größere Teile des Auxin produzierenden Gewebes abgetragen. Dieser Verlust macht sich im ersten halben bis ganzen Spitzenmillimeter nicht oder kaum bemerkbar. Offenbar reicht also der restliche Wuchsstoff noch vollkommen aus, um den Schwellenwert auf gleicher Höhe zu erhalten, wie bei Verdunkelung. Das beweist aber, daß das Ansteigen des Schwellenwertes im ersten Spitzenmillimeter nicht vom Auxingehalt abhängt, sondern die Folge einer abnehmenden Erregbarkeit ist. In den tieferen Zonen aber, beginnend mit etwa $1^1/_2$ mm, macht sich der Auxinverlust außerordentlich stark bemerkbar. Dieser kann hier nur durch eine sehr starke Erhöhung der Lichtmenge kompensiert werden. Daraus folgt aber, daß die Erregbarkeit unter $1^1/_2$—2 mm rapide abnimmt.

Ich möchte betonen, daß ich unter „Empfindlichkeit" die mehr oder minder große Erregbarkeit des Plasmas durch Außenfaktoren verstehe. Eine Zone wäre dann empfindlicher, wenn an ihr eine gleiche Reizmenge eine höhere Erregung hervorruft; beim Phototropismus der Coleoptile würde es sich dabei darum handeln, daß die für den schließlichen Effekt maßgebliche lichtbedingte Veränderung sich besonders ausgiebig und rasch in der Organspitze vollzieht. Gibt es nun wirklich eine solche lokal erhöhte Empfindlichkeit, oder wird sie nur vorgetäuscht? Das letzte wäre z. B. dann der Fall, wenn der Lichtabfall an der Spitze in gleichem Ausmaß erhöht würde, als der Verminderung des Schwellenwertes entspricht. Dazu wäre ein äußerst wirksamer „Schattenspender" notwendig. Als natürliche Schattenspender wurden in neueren Arbeiten (Bünning u. Mitarb. 1953a, Reinert 1953, Brauner 1955) vor allem die Carotinoide betrachtet, die sich sowohl in Teilen der Coleoptile als auch im ganzen Primärblatt vorfinden.

Reinert (1953) stellte zunächst fest, daß Carotinoide in vitro keine lichtbedingte Inaktivierung der β-Indolylessigsäure (IES) bewirken; die frühere Annahme, daß der Phototropismus auf eine derartige Photolyse zurückzuführen sei, läßt sich also nicht mehr aufrechterhalten. Andererseits sollen Carotinoide „das für die extrem hohe Empfindlichkeit der Coleoptile notwendige Gefälle des wirksamen blauvioletten Lichtes" herbeiführen. Dieses Gefälle bewirke dann eine ausgiebige Differenz der Photolyse in beiden Seiten, die ihrerseits unter Mitwirkung von Riboflavin erfolge. Die geringe Reaktion nach Dekapitierung führt Reinert auf das Fehlen des Carotins in der Coleoptilenbasis zurück. Daß „Schattenspender" eine große Bedeutung haben, geht besonders aus Brauners (1955, 1957) Angaben hervor. Andererseits zeigen diese Arbeiten bereits deutlich, daß Reinerts Theorie mit Tatsachen im Widerspruch steht. Brauner studierte die Xanthophyllverteilung in der Coleoptile auf das genaueste und stellte sie in einer Kurve dar. Es ergab sich, daß der äußerste massive Teil der Coleoptile (die ersten 200 μ) kein Carotin enthält. Es genügt aber, wie ich früher zeigte, bereits die Verdunkelung von $^1/_4$ mm (250 μ) um den Schwellenwert deutlich ansteigen zu lassen. Hier kann also die hohe Empfindlichkeit nicht durch Carotinbeschattung vorgetäuscht sein, vielmehr ist sie wirklich vorhanden. Die Xanthophyllkurve zeigt dann die höchsten Werte auch noch im zweiten und dritten Spitzenmillimeter. Ohne Primärblatt müßten also diese Zonen die gleiche Beschattung erfahren wie der erste Millimeter, aber die Empfindlichkeit sinkt gerade hier rapide ab. Entsprechende Versuche ohne Primärblatt fehlen, doch können auch solche mit dem Blatt herangezogen werden, da dessen Xanthophyllgehalt überall gleich ist. Die Lichtabsorption müßte also in der ganzen genannten Strecke die gleiche sein, wogegen als Versuchsergebnis ein rapider Anstieg der Schwellenwerte zwischen $^1/_2$—3 mm zu beobachten ist. Es muß also ein weiterer Faktor von ausschlaggebender Bedeutung sein, und ich betrachte als solchen die besondere apikale Erregbarkeit. Reinert stellte schließlich fest, daß die oxydative Photolyse der IES in vitro sehr stark absinkt, wenn Carotin hinzugefügt wird, da dieses einen großen Teil der Strahlung absorbiert. Somit würde das Carotin in der Pflanze auf der einen Seite zwar die Schattenwirkung fördern, auf der anderen Seite aber die Photolyse hemmen. Hinzu kämen weitere Absorptionen durch die Membranen usw.

Aus Brauners (1955) Arbeit, auf die ich später noch mehrfach eingehen werde, sei hier noch auf folgendes Ergebnis hingewiesen. Totalabsorption des Lichtes durch Tuschefüllung führt zu einer beträchtlichen Erhöhung der Reaktion gegenüber Wasserfüllung. Durch lediglich lokale Beleuchtung ließ sich aber zeigen, daß die Steigerung des Effektes nur im basalen Abschnitt, nicht aber in der 2,5 mm Spitzenzone zu erzielen ist. Hier kann also nach Brauner „die Absorptionswirkung des natürlichen Carotinfilters durch künstliche Zusatz-

beschattung kaum mehr verstärkt werden." Dazukomme die ausgleichende Wirkung der soliden Spitzenzone. Dieser möchte ich die größte Bedeutung beimessen. Wichtig ist ferner der von BRAUNER zitierte Befund NUERENBERGKs (1927), daß die ersten 0,15—0,25 mm für blaues, grünes und rotes Licht gleich empfindlich sind, und die bevorzugte Wirkung des Blaulichtes erst hinter der ersten Millimeterzone beginnt. Daraus folgert BRAUNER, „daß der tropistischen Wirkung des Lichtes in dieser Region ein völlig anderer Mechanismus zugrunde liegen" müsse und nicht durch Gegenwart von Carotinoiden bestimmt sein kann. Aus BRAUNERs Versuchen geht ferner hervor, daß auch die Reaktionen der basalen Teile nicht der Carotinkurve folgen, und er schließt daraus, daß „zweifellos noch andere Faktoren für den auffälligen basipetalen Abfall der Reaktionsfähigkeit mit verantwortlich" sind. Er denkt daran, daß bei Totalbelichtung das abströmende Auxin bereits im oberen Viertel weitgehend inaktiviert sein könnte, und weist auch auf die geringere basale Streckungsfähigkeit hin.

Im ganzen ergibt sich also, daß der rapide Abfall der Lichtempfindlichkeit keinesfalls nur durch die Wirkung von Schattenspendern bedingt ist.

Ich wende mich nunmehr einer Arbeit von BÜNNING (1955) zu, in der er selbst die Bedeutung des Carotins als Schattenspender für die Spitzenregion sehr einschränkt. Er prüfte zunächst die tatsächliche Absorption von Blaulicht in verschiedenen Teilen längsgespaltener Coleoptilen. Es ergab sich, daß die Spitzenregion (1—4 mm) weniger als die Hälfte der Strahlung durchtreten läßt, die 10- bis 14 mm-Zone aber ungefähr $^2/_3$. Diese Differenz könne „nicht entscheidend auf der Anwesenheit von Carotinoiden in der Spitze beruhen, denn sie zeigt sich auch bei Anwendung von Wellenlängen bis zu 600 mμ". Für die erhöhte Absorption der Spitzenregion macht BÜNNING die andersartige Lichtzerstreuung verantwortlich, wie sie durch unterschiedliche Zellgrößen und die verschiedene Ausbildung des Intercellularsystems bedingt sein könne. Bei Infiltration des Gewebes geht die Differenz nämlich zum größten Teil verloren. Auch BÜNNING prüfte den Carotinoidgehalt der verschiedenen Zonen, und zwar quantitativ. Je Gramm Trockengewicht ließen sich für die äußersten 2 mm 64 γ, für 1—4 mm 35,5 γ, für 4—8 mm 20 γ Carotinoide feststellen. Auf Grund seiner Befunde betont nun auch BÜNNING „die bevorzugte Spitzenempfindlichkeit der Coleoptile... kann hierdurch nicht voll erklärt werden". In der Tat steht der rapide Abfall der Empfindlichkeit in gar keinem Verhältnis zu dem des Carotins.

Betrachten wir nun die Frage der IES-Photolyse. Welche Beweise liegen dafür vor? Nach den Angaben von GALSTON u. Mitarb. (1949a, b) verläuft der Vorgang so, daß vorhandenes reduziertes Flavoprotein photooxydiert wird; hierbei wird H_2O_2 gebildet, das mit Hilfe einer Peroxydase die IES abbaut. BRAUNER (1953a) und BRAUNER u. BRAUNER (1954) zeigten dann, daß die IES-Zerstörung auch bei Sauerstoffausschluß erfolgt und die Anwesenheit von Wasser erfordert. Daraus schließen sie, daß lichtaktiviertes Riboflavin das Wasser zerlegt; dabei entstehen Riboflavin-H_2 und 2 OH-Radikale, bei deren Vereinigung der zur IES-Zerstörung nötige Sauerstoff sich bildet. BRAUNER (1952, 1953b) berichtet dann über einen eindeutigen Versuch, aus dem sich ergibt, daß derart vorbehandelte IES ihre Wirkung auf die Pflanze verliert.

Die Inaktivierung wurde von GALSTON in vitro und auch im Gewebebrei von Erbsenepikotylen festgestellt, nicht aber für ein intaktes Pflanzenorgan. In einem solchen liegen die Verhältnisse aber ganz anders. Schon bemerkt wurde, daß nach REINERT die IES-Photolyse durch gleichzeitig anwesendes Carotin sehr stark herabgedrückt wird, was BRAUNER für Crocin bestätigte. Carotine und andere absorbierende Substanzen sind aber in den Geweben vorhanden, in denen zusätzlich eine starke Lichtzerstreuung herrscht; ferner steht hier nicht nur die IES für eine Oxydation zur Verfügung. Die bisher erzielten Ergebnisse über die Photolyse der IES können also sicher nicht ohne weiteres auf die Verhältnisse in intakten Pflanzen übertragen werden.

C. Eigene Versuche

In der vorliegenden Arbeit sollte versucht werden, die Sachlage durch einige einfache Versuche weiter zu klären. Dabei sollte nur überprüft werden, inwieweit heute herrschende Vorstellungen aufrechterhalten werden können. Im Vordergrunde standen die Frage der erhöhten Spitzenempfindlichkeit und die der photolytischen Zerstörung der IES als Ursache der Reaktion.

In vielen Punkten schließt die vorliegende Studie an BRAUNERs schon genannte Untersuchung (1955) an. Als wir die entscheidenden Versuche bereits durchgeführt hatten, erschien von BRAUNER und HAGER (1957, 1958) eine Arbeit über den Geotropismus von *Helianthus*-Hypokotylen, die von ganz ähnlichen Gedanken ausgeht, wie sie mir vorschwebten und die sich daher auch ähnlicher Methoden bediente. Ich möchte betonen, daß wir, soweit nicht anders bemerkt, unabhängig von dieser Studie arbeiteten und nur äußere Umstände die Publikation verzögerten.

1. Vorversuche

a) Methodik. Zum Unterschiede von BRAUNER arbeiteten wir mit *dekapitierten* Coleoptilen von *Avena sativa*. Verwendet wurde die reine Sorte „Bördeweiß". Die Dekapitation betrug meist 4 mm, in Einzelfällen auch 3 und 5 mm; somit war die Zone höchster Empfindlichkeit eindeutig ausgeschaltet. Das Primärblatt wurde im allgemeinen belassen, aber, soweit notwendig, durch leichten Zug an der Basis abgetrennt; dadurch wurde vermieden, daß aufgesetzte Agarplättchen durch das Wachsen des Blattes hochgehoben würden. Zur Verstärkung der Schattenwirkung verwendeten wir mattes schwarzes Papier, von dem schmale Streifen leicht in die Höhlung einzuschieben waren; es ergaben sich dabei keine störenden Reaktionen. Zur Kontrolle wurden in Einzelfällen auch leere, also lufterfüllte Stümpfe verwendet oder intakte Coleoptilen mit Stanniolkäppchen versehen. Beleuchtet wurde mit einer 60 W-Glühbirne durch einige Stunden, die jeweilige Helligkeit wurde durch ein Luxmeter (LM 1 — Zeiss, Jena) bestimmt. Die in üblicher Weise hergestellten IES-haltigen Agarplättchen hatten das Ausmaß $2 \times 2 \times 1{,}5$ mm. Die bespelzten Körner wurden in passenden Glasgefäßen, die mit gesiebter Gartenerde gefüllt waren, im Dunkelhaus herangezogen. Die Temperatur betrug hier 22°, die relative Luftfeuchtigkeit etwa 90%. Zu Versuchsbeginn betrug die freie Länge der Coleoptilen etwa 2,5 cm. Die Winkelmessung erfolgte nach der Methode von SÖDING (1952).

b) Die optimale Auxinkonzentration. Zunächst stellten wir einige Versuche an, um die optimale IES-Konzentration für die beleuchteten Stümpfe zu ermitteln. Dabei beleuchteten wir mit 780 Lux durch

3 Std. Über eine solche Versuchsreihe gibt Tabelle 2 Auskunft. Dazu ist noch zu bemerken, daß in sämtlichen Tabellen die angeführten Zahlen den durchschnittlichen Winkel von 6 Coleoptilen darstellen, die stets sehr gleichmäßig reagierten; schließlich wurde noch der gesamte Mittelwert berechnet.

Die Tabelle zeigt, daß die IES-Konzentration 5×10^{-7} g/cm³ den optimalen Effekt bewirkte; somit wurde sie im folgenden stets angewendet. In Parallelversuchen dekapitierten wir 3, 4 oder 5 mm, ohne daß sich das Ergebnis änderte: Der Gesamtdurchschnittswinkel aller

Tabelle 2. *Phototropische Krümmung von 4* mm *dekapitierten Avenacoleoptilen mit verschiedenen IES-Konzentrationen.*

Beleuchtung 780 Lux, 3 Std

$5 \cdot 10^{-8}$ g/cm³	$5 \cdot 10^{-7}$ g/cm³	$5 \cdot 10^{-6}$ g/cm³	$5 \cdot 10^{-5}$ g/cm³
28,1°	32,5°	27,1°	24,0°
28,3°	31,8°	27,6°	25,1°
27,6°	31,0°	27,1°	25,1°
		28,8°	24,0°
28,0°	31,76°	27,63°	24,55°
Intakte Coleoptilen			
62,3°	62,0°	62,0°	61,8°
61,0°	62,0°	63,1°	62,1°
62,5°	61,3°	63,5°	61,8°
		61,0°	61,1°
61,93°	61,56°	62,40°	61,70°

Pflanzen betrug bei 3 mm 32,86°, bei 4 mm 31,84° und bei 5 mm 32,24°. Unter den gegebenen Bedingungen erwies sich also die Strecke 3—5 mm als gleich empfindlich. Gleichzeitig beleuchtete intakte Kontrollen krümmten sich stets in Winkeln zwischen etwa 61,5 und 63°, somit viel stärker als die Stümpfe. Da diese „normale" IES-Versorgung hatten, fällt der starke Abfall der Krümmung auf. Er konnte nicht die Folge von Auxinmangel sein, und es blieb zu entscheiden, ob eine verminderte Reaktionsfähigkeit oder ein Abfall der Empfindlichkeit als Ursache anzusehen sei. Um dies zu entscheiden, wurden Versuche über die Neubildung einer „physiologischen Spitze" durchgeführt; solche waren beim Arbeiten mit Stümpfen auch aus anderen Gründen erforderlich.

c) Die „physiologische Spitze". SÖDING (1925, 1929) erkannte als erster, daß dekapitierte Coleoptilen nach einiger Zeit eine „physiologische Spitze" regenerieren. Nach seinen Wachstumsmessungen verfügen die Stümpfe 10—14 Std nach der Dekapitation wieder über den normalen Wuchsstoffgehalt. Der Produktionsort des Auxins liegt wieder wie bei ganzen Keimlingen im ersten Spitzenmillimeter. Die kürzeste Versuchszeit betrug bei SÖDING $3^1/_2$ Std. DOLK (1926) zeigte dann, daß das Wachstum bei Dekapitation von 2 mm nach 150 min wieder einsetzt und

zu gleicher Zeit die phototrope Krümmungsfähigkeit wieder erwacht. Die Existenz einer physiologischen Spitze wurde dann in einer Reihe weiterer Arbeiten bestätigt und wohl nur von Bünning (1937) bezweifelt. Dieser vertrat die Ansicht, daß die anfängliche Wachstumshemmung und spätere Beschleunigung zum größten Teil eine direkte Wirkung der Verwundung sei. Das ist kaum mit den früher erwähnten Ergebnissen von Koch (1934) zu vereinen. Wenn dieser sukzessive dekapitierte, so ergaben sich die gleichen Schwellenwerte wie bei Verdunkelung gleicher Strecken. Solange also im Spitzenteil genügend Auxin vorhanden war, machte sich die Verwundung nicht bemerkbar. Da man nun annehmen kann, daß die Wundwirkung die gleiche ist, wenn man $^1/_4$, $^1/_2$ oder 1 mm abschneidet, kann sie für das rapide Ansteigen der Schwellenwerte nicht verantwortlich gemacht werden.

Tabelle 3. *Nachkrümmung durch Regeneration der physiologischen Spitze.* Dekapitation 4 mm, Beleuchtung 520 Lux, 2 Std; Verdunkelung 2 Std

16,0°
15,2°
15,0°
15,5°
15,0°
15,7°
15,0°
15,34°

Zunächst beleuchteten wir Stümpfe mit 520 Lux während 120 min, also unterhalb der Regenerationszeit, die in der Literatur angeführt wird. Eine Wuchsstoffversorgung der Stümpfe fand nicht statt. Während der Belichtungszeit trat keine Krümmung ein. Dann wurden die Pflanzen in den Dunkelraum gebracht, wo sie nach weiteren 2 Std die Winkel der Tabelle 3 ergaben. Der Gesamtdurchschnittswinkel betrug 15,34°, war also knapp halb so groß wie der von Pflanzen, die mit Wuchsstoff versehen worden waren (vgl. Tabelle 2); dazu kommt die verspätete Reaktion. Für diese Tatsachen erscheint als einfachste Erklärung, daß es im Dunkeln allmählich zur Neubildung von Auxin kam, die aber in der Gesamtzeit von 4 Std noch nicht das normale Ausmaß erreichte.

Tabelle 4. *Phototropismus dekapitierter Avenacoleoptilen nach Regeneration der „physiologischen Spitze".* Dekapitation 4 mm, Verdunkelung 10 Std, Beleuchtung 780 Lux, 3 Std

62,1°
61,0°
61,8°
63,3°
63,5°
63,8°
63,0°
63,8°
62,79°

In einer weiteren Versuchsserie beließen wir die Stümpfe erst 10 Std in Dunkelheit. Anschließend beleuchteten wir sie mit 780 Lux während 3 Std. Tabelle 4 zeigt das Ergebnis. Die Stümpfe krümmten sich sehr einheitlich und erreichten den Gesamtdurchschnittswinkel von 62,79°, somit den gleichen, den intakte Coleoptilen unter diesen Umständen zeigten. Dieses Ergebnis erhellte die Sachlage. Offenbar war nach 10 Std, das ist die Zeit, die auch Söding angab, eine physiologische Spitze regeneriert. Die Stümpfe produzierten nunmehr die normale Auxinmenge und das führte zur Vollkrümmung. Somit ist das basale Stück so junger Coleoptilen noch voll streckungsfähig. Danach erklären sich also die geringeren Winkel der Tabelle 2 daraus, daß den Stümpfen dort das höhere Empfindungsvermögen der Spitze fehlte; mit Auxin

waren sie ja versorgt gewesen. Daraus folgt nun wieder, daß Stümpfe mit neuer physiologischer Spitze nicht nur normal Auxin produzieren, sondern auch die hohe Empfindlichkeit erlangen, die sonst nur der Spitze zukommt. Ferner ergibt sich, daß die bevorzugte Empfindlichkeit der Spitze mit deren histologischem Bau nichts zu tun hat; sie muß vielmehr auf besonderen physiologischen Vorgängen beruhen, die sich in der Spitze abspielen und auf die physiologische Spitze übertragbar sind.

In einer weiteren Serie versorgten wir die Coleoptilen sofort nach der Dekapitation in üblicher Weise *einseitig* mit Auxin auf der Schnittfläche. Für solche Arbeiten verwendeten wir eine Rotlichtlampe, die phototrop unwirksam war. Nach 4 Std resultierte in 11 Serien ein Durchschnittswinkel von 38,67°, wobei wieder sehr geringe Differenzen auftraten. Die Winkel waren also größer als in Tabelle 2, wo beleuchteten Stümpfen das Auxin auf der ganzen Schnittfläche aufgelegt worden war. Das weist darauf hin, daß bei diesen auch auf der Lichtseite ein Teil des gebotenen Auxins abwanderte und die Krümmung hemmte.

Tabelle 5. *Krümmungen einseitig mit IES versorgter Coleoptilen von Avena.* Versuchszeit 3 Std

Intakte Coleoptilen	Dekapitierte Coleoptilen (4 mm)
35,0°	69,6°
35,5°	74,6°
36,8°	73,8°
37,3°	73,0°
36,5°	72,1°
35,6°	73,3°
36,6°	70,8°
36,6°	73,3°
35,5°	74,1°
36,0°	74,3°
36,14°	72,89°

Die Richtigkeit dieser Annahme läßt sich prüfen. Intakte Coleoptilen und Stümpfe wurden *seitlich außen* mit Auxin versorgt. Da dieses durch die Epidermis nur langsam eintritt, verwendeten wir eine Lanolin-Auxinpaste 6×10^{-5} g/cm³. Das Ergebnis kann aus Tabelle 5 entnommen werden. Intakte Pflanzen krümmten sich nach 3 Std viel schwächer als Stümpfe. Diese hatten also während der Versuchszeit noch keine namhaften Auxinmengen neu gebildet, und bei den intakten Pflanzen hemmte der allseits abfließende eigene Wuchsstoff die Krümmung. Auch diese Versuche sprechen gegen die Annahme, daß der Wundwirkung eine größere Bedeutung zukommt.

Als Gesamtergebnis erscheint die Tatsache, daß ein Stumpf nach 10 Std die Erregbarkeit der intakten Pflanzen wieder erreicht und die normale Wuchsstoffproduktion wiederaufnimmt.

2. Hauptversuche

a) Die Schattenwirkung. Im Anschluß an BRAUNERS (1955) Studie untersuchten wir als nächstes den Effekt der Schattenwirkung an Stümpfen. Hier soll vorerst nur über eine solche Serie berichtet werden. Es wurden stets 2 Serien von Stümpfen miteinander verglichen, von denen die eine das Primärblatt, die andere den schwarzen Papierstreifen enthielt. Beleuchtet wurde mit 780 Lux. Das Versuchsergebnis zeigt die Tabelle 6. Pflanzen mit Totalabsorption krümmten sich nicht viel stärker als solche mit Blättchen (Beleuchtungsdauer $4^1/_2$ Std). Dieses

absorbiert also zusammen mit der Coleoptile im Stumpf die wesentlichste wirksame Strahlung.

Vergleichen wir das Ergebnis mit den Angaben BRAUNERS, der unten abgeschnittene Coleoptilen mit Tusche füllte. Er maß nicht die Winkel, sondern die horizontale Spitzenabweichung in Mikrometerteilen. Diese betrug bei Totalbeleuchtung und Tuschefüllung 496,1, mit Blatt 427,0, mit Wasser 360,1. Prozentual beträgt die Zunahme von Tusche zu Blatt bei Brauner etwa 16%, bei uns (Papier zu Blatt) 8%. Spätere ähnliche Versuche zeigten aber auch Winkeldifferenzen von 3—4° zugunsten des schwarzen Papiers, und dann ergibt sich etwa die gleiche prozentuale Zunahme wie bei BRAUNER.

In einem weiteren Versuch verglichen wir Coleoptilen, deren Spitze mit einem 5 mm langen Stanniolkäppchen verdunkelt war, mit solchen, die in gleicher Länge dekapitiert waren. Die Winkel in beiderlei Serien (je 6 zu 6 Pflanzen) waren so gleichartig, daß hier die Angabe der Durchschnittswinkel genügt: sie betrugen bei Spitzenverdunkelung 21,65°, bei Dekapitation 21,01°. Beleuchtet wurde mit 520 Lux während $4^1/_2$ Std. Das Ergebnis überrascht zunächst, stimmt aber mit früheren Angaben von REINDERS (1934) überein.

Tabelle 6. *Avena sativa. Phototropische Krümmungswinkel von dekapitierten Coleoptilen mit verschiedener Füllung.* Dekapitation 4 mm; Beleuchtung 780 Lux, $4^1/_2$ Std

Papier	Primärblatt
24,0°	22,6°
24,0°	21,6°
24,6°	22,8°
25,0°	22,0°
24,25°	22,25°

Zunächst zeigt der Versuch, daß die Stümpfe nach $4^1/_2$ Std bereits wieder genügend Wuchsstoff zur Ausführung einer phototropen Krümmung besaßen. Immerhin fällt auf, daß die sicher auxinreicheren intakten Pflanzen nicht stärker reagierten. Die einfache Deutung, die Gleicheit der Winkel erkläre sich aus der gleichen „Empfindlichkeit" der nunmehr allein bestrahlten Zone, ist unwahrscheinlich. Es besteht nämlich in beiden Versuchen der große Unterschied, daß bei den Stümpfen die Zone höchster Erregbarkeit (die physiologische Spitze) mit beleuchtet war, bei den Käppchenpflanzen aber nicht. Da man nun weiß, daß für die Entstehung der Seitenverschiedenheit hauptsächlich die jeweilige Spitze verantwortlich ist, wird das Resultat verständlich: das beleuchtete Stumpfende wird stärker erregt, als die gleiche Zone bei verdunkelter Spitze und das gleicht die geringere Auxinmenge aus.

b) Die Nachwirkung des phototropen Reizes. Entscheidende Aufschlüsse erwartete ich von Versuchen, die sich mit der Nachwirkung des phototropen Reizes befaßten. Verwendet man zu solchen Versuchen mehr oder minder wuchsstofffreie Stümpfe, so ist es möglich, den Perzeptionsvorgang von der Auxinwirkung zu trennen. Der Versuch ist sehr einfach: Coleoptilen werden soweit dekapitiert, daß ihre auxinbildende Spitzenzone völlig entfernt ist; es verbleibt dann noch eine geringe Auxinmenge im Stumpf, die bald verbraucht wird. Hierauf

werden die Stümpfe kürzer beleuchtet, als die Regenerationszeit der Spitze beträgt (etwa $2^1/_2$ Std). Eine Photolyse der IES kann dabei nicht erfolgen, da diese ja während der Beleuchtung fehlt; ebensowenig kann eine Querverschiebung von Auxin stattfinden. Es war somit zu prüfen, ob es dann noch zu einer phototropen Krümmung kommt oder nicht.

Tabelle 7. *Nachkrümmung einseitig belichteter zweimal dekapitierter Avenacoleoptilen.* Beleuchtung 780 Lux, 3 Std; Verdunkelung 2 Std

Mit IES $5 \cdot 10^{-7}$ g/cm³	Ohne IES
28,7°	9,2°
28,5°	9,0°
27,7°	9,5°
28,5°	9,2°
27,7°	9,2°
27,5°	9,5°
28,0°	9,7°
28,08°	9,18°

Einen solchen Versuch hat BRAUNER (1922) schon vor geraumer Zeit ausgeführt. Er dekapitierte Coleoptilen 5 mm und beleuchtete die Stümpfe einseitig mit 200 MKS; darauf wurden die verdunkelt aufgehobenen Spitzen wieder aufgesetzt. Nach 4 Std Verdunkelung zeigten 60% der Pflanzen eine positive Krümmung, die sich besonders in einer gewissen Entfernung von der Spitze vollzog. Es handelt sich hier um die *erste* positive Krümmung; entsprechende Versuche über die *zweite* und *dritte* sind mir nicht bekannt geworden.

In einer Versuchsreihe arbeiteten wir mit Stümpfen, die schwarzes Papier enthielten. Die Beleuchtung betrug 780 Lux durch 3 Std. Dann wurde der Papierstreifen entfernt und ein zweites Mal knapp dekapitiert, so daß für weitere 2 Std mit einer Regeneration der Spitze nicht zu rechnen war. Die eine Hälfte der Stümpfe wurde nun mit Auxinagar bedeckt, die andere diente als Kontrolle. Darauf verweilten die Pflanzen weitere 2 Std in Dunkelheit. Tabelle 7 enthält das eindeutige Ergebnis. Die Versuchspflanzen hatten sich stark gekrümmt, die Winkel sind sogar etwas größer, als wir sie früher mit Papierfüllung nach $4^1/_2$ Std Beleuchtung beobachtet hatten (24,25°). Auch die Kontrollen hatten sich leicht gekrümmt (9,18°), sie hatten also während der Beleuchtung schon etwas Auxin gebildet.

Tabelle 8. *Nachkrümmung 4 mm dekapitierter durch diffuses Tageslicht einseitig gereizter Avenacoleoptilen nach IES-Zufuhr.* Beleuchtung 3 Std. Verdunkelung 2 Std

Mit IES $5 \cdot 10^{-7}$ g/cm³
28,8°
27,2°
27,0°
27,5°
28,2°
27,7°
27,73°

In einer weiteren Serie beleuchteten wir mit diffusem Tageslicht 3 Std, trugen dann wieder ein dünnes Scheibchen ab und stellten die Pflanzen ins Dunkle. Das Ergebnis war das gleiche wie früher (Tabelle 8).

Ein weiterer Versuch wurde schon früher erwähnt (Tabelle 3, S. 419). Stümpfe wurden nur 2 Std mit 520 Lux beleuchtet und nicht nochmals dekapitiert. Im Dunkel begann dann nach Regeneration der Spitze die Krümmung, und erreichte nach 2 Std im Durchschnitt 15,31°. Der Winkel war somit erheblich größer als der der Kontrollen in Tabelle 7,

die ein zweites Mal dekapitiert worden waren; das beweist auch wieder die Regeneration der Spitze.

Schließlich soll noch ein Versuch mitgeteilt werden, in dem wir mit und ohne Schattenspender arbeiteten. Es wurden parallel geprüft: Stümpfe mit schwarzem Papier, Stümpfe mit Blatt und leere Stümpfe. Stets wurde nachträglich die Hälfte der Pflanzen mit Auxin versorgt, die andere Hälfte nicht. Die Beleuchtung betrug 780 Lux während 3 Std, nach der Beleuchtung wurde nochmals knapp dekapitiert und dann verdunkelt. Tabelle 9 zeigt das Ergebnis. Von den Auxinpflanzen

Tabelle 9. *Nachkrümmung zweimal dekapitierter Avenacoleoptilen mit verschiedenen Coleoptilfüllungen.* Beleuchtung 780 Lux, 3 Std; Verdunkelung 2 Std

Schwarzes Papier		Primärblatt		Ohne Schattenspender	
mit IES	ohne IES	mit IES	ohne IES	mit IES	ohne IES
28,6°	8,1°	25,6°	6,8°	11,3°	2,1°
30,0°	8,6°	25,3°	6,1°	11,6°	2,5°
29,0°	10,5°	25,0°	5,5°	12,1°	1,5°
28,6°	8,6°	24,0°	6,0°	11,0°	0,8°
28,5°	9,0°	24,6°	5,0°	10,6°	1,8°
27,8°	8,6°	24,6°	6,1°	10,5°	1,5°
27,6°	8,6°	25,8°	5,6°	11,3°	1,0°
27,6°	9,3°	25,3°	5,8°	11,1°	
29,8°	8,0°	26,0°	5,6°	12,0°	
29,0°	9,3°	25,5°	5,5°		
28,0°		24,0°			
29,0°					
28,62°	8,87°	25,08°	5,80°	11,26°	1,60°

hatten sich die mit schwarzem Papier um 3—4° stärker gekrümmt als die mit Blatt und viel stärker als die mit Luft. Die Wirkung des Schattenspenders macht sich besonders bemerkbar, wenn man die Pflanzen ohne Auxinversorgung betrachtet. Auch sie hatten sich etwas gekrümmt, somit vorher einigen Wuchsstoff regeneriert. Ohne Schattenspender war dessen Wirkung indessen minimal.

Hier muß auf eine Differenz gegenüber BRAUNERs (1955) Versuchen hingewiesen werden. Seine mit Luft gefüllten, nicht dekapitierten Coleoptilen zeigten die stärkste Reaktion. Er führt dies darauf zurück, daß das Licht an der Peripherie des Hohlraums total reflektiert wird. Einen solchen Versuch hat schon DU BUY (1934) durchgeführt und in gleicher Weise erklärt; auch hat er diese starke Reflektion gegenüber Wasserfüllung photographisch dargestellt. DU BUY arbeitete mit Stümpfen; er dekapitierte 2 mm und bot kein Auxin. Indessen wartete er erst 5 Std nach der Dekapitation ab, so daß die Spitze während der Beleuchtung schon weitgehend regeneriert war. Er verglich Stümpfe mit Blatt mit solchen, die mit Luft oder Wasser gefüllt waren. Die phototrope Krümmung betrug in gleicher Reihenfolge 17, 12 und 7°. Die Luftfüllung wirkte also schwächer als die mit Blatt, was mit unseren Ergebnissen für Stümpfe übereinstimmt. Die Luftwirkung ist also, wenn man diese Ergebnisse mit denen BRAUNERs vergleicht,

offenbar im wesentlichen auf die Spitze beschränkt; das dürfte mit den Bauverhältnissen der Spitze zusammenhängen. Es ist indessen schwer zu verstehen, wieso die Luftfüllung in BRAUNERs Versuch überhaupt die Totalabsorption durch Tusche übertreffen konnte, ferner, daß die Luftfüllung dies erst nach 3 Std tat, während sie zu Beginn der Reaktion sehr schwach wirkte.

Tabelle 10. *Nachkrümmungen dekapitierter Avenacoleoptilen bei 1 Std Wartezeit bis zur IES-Zufuhr*

Papier mit IES	Papier ohne IES	Primärblatt mit IES	Primärblatt ohne IES
25,5°	7,8°	24,1°	4,5°
26,3°	7,5°	23,3°	5,0°
26,5°	7,5°	23,8°	4,5°
26,1°	7,3°	23,1°	4,8°
26,1°	7,1°	23,8°	4,5°
26,5°	7,8°	23,6°	4,5°
26,16°	7,5°	23,61°	4,63°

Aus den geschilderten Versuchen geht ganz klar hervor, daß auch ± wuchsstofffreie Coleoptilen den phototropen Reiz voll empfinden. Sie können sich zunächst nur deshalb nicht krümmen, weil ihnen der Wuchsstoff fehlt. Damit ist aber erwiesen, daß die phototrope Krümmung nicht auf einer Photolyse der IES beruht, daß es sich vielmehr zunächst um eine lichtbedingte Veränderung (Erregung) handelt, die mit dem Auxin nichts zu tun hat. Ebensowenig ist es möglich, eine Querverschiebung von Auxin als *primäre* Ursache der phototropen Krümmung anzusehen.

Man könnte vielleicht einwenden, daß es sich doch um einen auxin-zerstörenden Vorgang handle, der nachwirke. Nach der ursprünglichen Theorie von GALSTON soll bei der Belichtung des Riboflavins H_2O_2 entstehen, das dann unter Mitwirkung einer Peroxydase die IES oxydativ zerstört. BRAUNER (1953) zeigte dann, wie schon früher erwähnt, daß es sich kaum um H_2O_2-Bildung handelt, sondern eher um eine Sauerstoffbildung, die durch Wasserzerlegung zustande kommt. Nun kann man nicht annehmen, daß gebildetes H_2O_2 Bestand hätte, da es durch Katalase reduziert würde. Ebensowenig aber ist glaubhaft, daß die Reaktion nach BRAUNER so andauert, daß nachträglich noch IES zerstört werden kann.

Tabelle 11. *Nachkrümmung dekapitierter Avenacoleoptilen bei 8 Std Wartezeit bis zur IES-Zufuhr*

15,5°
15,0°
14,1°
14,6°
14,6°
15,0°
14,8°

Um sicherzugehen, prüften wir die Frage noch dadurch, daß wir zwischen Beleuchtung und Auxinversorgung Pausen einschalten; im übrigen arbeiteten wir wie früher. Um die Bildung einer physiologischen Spitze zu verhindern, wurde stets vor dem Aufsetzen der Agarplättchen nochmals dekapitiert. Nach einer Pause von 1 Std sanken die Winkel nur wenig ab (Tabelle 10), ebensowenig nach $1^1/_2$ Std. Auf das hin pausierten wir 8 Std und bekamen für Coleoptilen mit schwarzem Papier die Winkel der Tabelle 11. Pflanzen ohne Wuchsstoffversorgung blieben jetzt ungekrümmt. Erst nach 12 Std Pause gab es keine Nachkrümmung mehr. Bei den Versuchen mit langer Pause wurde mehrfach schwach dekapitiert, um die Ausbildung der physiologischen Spitze zu verhindern.

Die Versuche lehren, daß die lichtbewirkte Veränderung (Erregung) viele Stunden lang andauert. Ich halte es demnach für ausgeschlossen, daß es sich um die Nachwirkung von Vorgängen handelt, wie sie GALSTON und BRAUNER für die Zerstörung der IES annahmen.

c) Antagonistische Beleuchtung. Eine Photolyse müßte sich auch bemerkbar machen, wenn man Pflanzen antagonistisch beleuchtet. Zu diesem Zweck stellten wir zwischen 2 Glühbirnen bei einer Helligkeit von 780 Lux die photometrische Mitte fest, d. h. die Stelle, an der Coleoptilen sich nicht mehr einseitig krümmen oder „scheiteln" (vgl. v. GUTTENBERG 1922), d. h. kleine Abweichungen nach beiden Seiten zeigen. Hier wurden dann die dekapitierten blatthaltigen Coleoptilen aufgestellt. Nach 4 Std Beleuchtung wurde diese eingestellt; die Pflanzen waren ungekrümmt. Nun setzten wir ihnen in üblicher Weise Auxinagarblöckchen *seitlich* der Schnittfläche auf, ebenso Kontrollen, die vorher verdunkelt gewesen waren. Dem Versuch lag der Gedanke zugrunde, daß nachwirkende photolytische Prozesse die nunmehr einseitig abfließende IES angreifen müssen, was eine Herabsetzung der Krümmung zur Folge hätte. Eine solche trat, wie Tabelle 12 zeigt, nicht ein; beiderlei Serien reagierten gleichartig. Der Versuch läßt also keine Nachwirkung photolytischer Prozesse erkennen. Man erkennt ferner, daß offenbar auch keine andersartige Veränderung eingetreten war, die das Abfließen des Auxins stört. Der Lichteinfluß kann also auch nicht darin bestehen, daß der Auxintransport einseitig „gesperrt" wird. Wir beleuchteten weitere Serien durch 5 und durch 6 Std; auch das änderte nichts am Ergebnis. Unter den gegebenen Bedingungen wird also auch die Reaktionsfähigkeit durch das Licht noch nicht beeinträchtigt.

Tabelle 12. *Avena sativa. Phototropismus nach antagonistischer Belichtung und einseitiger IES-Zufuhr (5×10^{-7} g/cm³). Dasselbe nach Dunkelheit*

Dekapitiert und 4 Std belichtet	Dekapitiert und 4 Std in Dunkelheit
25,3°	24,3°
25,8°	25,1°
25,8°	25,1°
24,1°	24,1°
24,1°	
23,9°	
23,9°	
24,9°	
24,4°	
24,4°	
24,66°	24,65°

d) Sauerstoffentzug. Zu Versuchen, in denen während der Beleuchtung Sauerstoff ausgeschlossen wird, wurden wir zunächst dadurch angeregt, daß nach Untersuchungen unseres Institutes (v. GUTTENBERG und ZETSCHE 1956, REIFF und v. GUTTENBERG 1959) der Auxinlängstransport mit Atmungsvorgängen eng verbunden ist. Später wurden wir mit der Arbeit von BRAUNER und HAGER (1958) bekannt, die solche Versuche mit Erfolg beim Geotropismus durchführten. Die Fragestellung ist nicht neu. So befaßte sich schon CORRENS (1892) ausführlich mit dem Einfluß von Sauerstoff auf die Tropismen. Er fand eine sehr starke Beeinträchtigung in Wasserstoffatmosphäre und glaubte feststellen zu können, daß die phototrope Krümmung schon bei O_2-Verlusten aufhört, die noch schwachen Geotropismus ermöglichen. Später hat sich VAN AMEIJDEN (1917) dem Problem

zugewendet. Er verwendete Stickstoffatmosphäre und fand, daß in ihr sowohl die geo- als auch die phototrope Perzeptionsfähigkeit erlischt. Nach Übertragung in Luft findet keine Nachwirkung der Reize statt. Auch das Reaktionsvermögen erlischt, da vorher gereizte Pflanzen sich, in Stickstoffatmosphäre gebracht, nicht krümmen. Obwohl die Frage also im Prinzip bereits entschieden ist, mußten solche Versuche im Zusammenhang mit der neuen Fragestellung wiederholt werden.

Wir brachten die Keimlinge in Glasrezipienten, durch die ein Stickstoffstrom geleitet wurde; nach 1 Std ließ sich kein Sauerstoff mehr nachweisen. Daraufhin wurde $1^1/_2$ Std mit 780 Lux einseitig beleuchtet, und dann wurden die noch ungekrümmten Pflanzen in reine Luft im Dunkeln aufgestellt. Es ergab sich niemals eine Nachkrümmung. Daraufhin prüften wir die Wirkung eines nachfolgenden Lichtreizes. Die Pflanzen standen erst verdunkelt 2 Std im Stickstoffrezipienten. Danach wurden sie wie früher in reiner Luft beleuchtet. Tabelle 13 zeigt die phototropen Winkel nach $1^1/_2$ Std im Vergleich zu Kontrollen. Man erkennt, daß die Stickstoffpflanzen sehr rasch wieder reaktionsfähig waren, wenn auch nicht in vollem Ausmaß. Schalteten wir 1 Std Verdunkelung in Luft vor der Beleuchtung ein, so betrug der Durchschnittswinkel bereits 21,0° und nach 4 Std war keine Differenz gegenüber den Kontrollen mehr zu beobachten.

Tabelle 13. *Phototropische Krümmung intakter Avenacoleoptilen mit und ohne Stickstoffvorbehandlung*

Vorbehandlung mit N_2	Ohne N_2-Vorbehandlung
18,5°	28,5°
17,6°	28,6°
17,1°	29,6°
16,0°	29,0°
17,5°	30,5°
17,8°	29,1°
18,8°	28,3°
18,5°	29,3°
19,0°	30,0°
18,3°	28,8°
18,0°	28,1°
18,5°	28,8°
18,6°	29,3°
	29,8°
18,01°	29,12°

Wir brachten dann auch Keimlinge von *Zea mays* und *Sorgum vulgare* in die Stickstoffatmosphäre. Nach 2 Std Beleuchtung erfolgte keine Krümmung bei einem Durchschnittswinkel der Kontrollen von 38,84° (*Zea*) und 44,32° (*Sorgum*). Wurden solche Pflanzen erst nachträglich mit 780 Lux beleuchtet, so ergaben sich nach 2 Std schon erhebliche Krümmungen, nämlich im Durchschnitt 24,02° für *Zea* und 38,36° für *Sorgum*. Die Erholung vollzog sich also rascher als bei *Avena*.

BRAUNER und HAGER (1957, 1958) haben bei durchaus entsprechenden Versuchen mit Schwerkraftwirkung ein sehr ähnliches Ergebnis erzielt. Immerhin gab es auch in Stickstoffatmosphäre geringe Krümmungen, die Störung scheint also etwas geringer zu sein als beim Phototropismus, was dem Befunde von CORRENS entsprechen würde. Auch bei den geotropen Versuchen waren die Pflanzen nach Übertragung in Luft gleich wieder reizbar, wenn sie auch in vermindertem Maße reagierten. Für beide Tropismen ist also mit oxydativen Prozessen bei der Induktion zu rechnen. Da sich nun nach BRAUNER, wie früher (vgl. S. 416) erwähnt, die Photolyse der IES auch bei O_2-Ausschluß

vollzieht, ergibt sich ein weiteres Argument gegen die Zerstörungstheorie.

e) Kälteversuche. Angeregt durch die Versuche von BRAUNER und HAGER (1957, 1958) exponierten wir auch Coleoptilen in Kälte.

Es gelang, eine 60 W-Birne so in einen Kühlschrank einzuführen, daß die Pflanzen in 30 cm Entfernung beleuchtet wurden. Kühlcüvetten verhinderten zu starke Erwärmung und Auskleidung der Wände des Kühlraumes mit mattschwarzem Papier Reflexionslicht.

Die Pflanzen weilten erst bei $+5^0\ ^1/_4$ Std im Dunkeln, dann wurde die Beleuchtung eingeschaltet und 2 Std lang belassen; während dieser Zeit kam es zu keiner Krümmung. Anschließend standen die Keimlinge, mit Dunkelschutz übertragen, im Dunkelhaus. Nach $1^1/_2$ Std zeigten die Kältepflanzen einen etwa halb so großen Durchschnittswinkel (17,25°) als gleichzeitig beleuchtete Kontrollen (Durchschnitt 35,15°). Es trat also eine typische Nachwirkung ein, die Kälte hatte die Induktion nicht verhindert, sondern nur eingeschränkt, ferner die Reaktion ausgeschaltet. BRAUNER und HAGER erzielten in ihren geotropen Versuchen ein völlig entsprechendes Resultat. Sie schalteten auch Wartezeiten ein und fanden selbst nach 12 Std noch eine, allerdings stark geschwächte, Reaktion. Eine ähnliche Zeit beobachteten wir, wie früher gezeigt, für das Abklingen der phototropen Erregung in Stümpfen, ebenso BRAUNER und HAGER bei entsprechenden geotropen Versuchen mit Hypokotylen.

Aus ihren Versuchen konnten die Genannten auch den Temperaturkoeffizienten für den geotropen Induktionsvorgang bestimmen. Er betrug rund 3,75, ist also sehr hoch. Daraus schließen die Verfasser auf eine entscheidende Mitwirkung chemischer Prozesse.

D. Diskussion

Da schon in der Einleitung und im Zusammenhang mit den Versuchen mehrfach Schlüsse gezogen wurden, kann ich mich hier in manchen Punkten kurz fassen.

Es ließ sich durch verschiedenartige Versuche zeigen, daß die Schattenwirkung zwar von Bedeutung ist, aber keinesfalls den tatsächlichen Abfall der phototropen Erregbarkeit erklären kann. Dieser vollzieht sich viel rapider und in Ausmaßen, die mit der jeweiligen Schattenspendung in keiner Weise übereinstimmen. Für die hohe Empfindlichkeit der äußersten Spitze können Carotinoide nicht verantwortlich gemacht werden, wohl aber ist der Pigmentgehalt des Primärblattes für den wenig reizbaren basalen Teil von Bedeutung. Es besteht also kein Zweifel mehr darüber, daß die alte Auffassung der Reizphysiologie zu Recht besteht, also die hohe Empfindlichkeit der Spitze nicht vorgetäuscht ist.

Phototrop gereizte ± wuchsstofffreie Stümpfe zeigen bei nachträglicher Wuchsstoffversorgung im Dunkeln starke Krümmungen. Es

findet also eine Nachwirkung des Reizes statt. Dieses Ergebnis widerlegt die Annahme, daß die phototrope Reaktion die Folge einer einseitigen während der Beleuchtung auftretenden Auxinphotolyse sei. Gestützt wird diese Behauptung dadurch, daß die Nachwirkung viele Stunden lang andauert und daß auch antagonistisch beleuchtete Coleoptilen keine Photolyse erkennen lassen. Dieser letzte Versuch zeigt auch, daß das Licht den Auxintransport nicht sperrt.

Unsere Versuche zeigen ferner, daß der *Primäreffekt* nicht in einer queren Wanderung des Auxins bestehen kann. Zu dem gleichen Schlusse kamen BRAUNER und HAGER (1957, 1958) für den Geotropismus von Hypokotylen, da auch hier eine Reizung wuchsstofffreier Stümpfe bei nachträglicher IES-Versorgung zu Krümmungen führte.

Gegen das Auftreten eines Primäreffektes (preparatory or introductory process) hat sich allerdings DE WIT (1957) für den Geotropismus ausgesprochen. Er exponierte abgeschnittene dekapitierte Coleoptilen erst horizontal in Wasser und stellte sie dann aufrecht in eine IES-Lösung. Dabei ergab sich keine Nachkrümmung. Daraus schließt DE WIT, daß der geotrope Reiz nur in Gegenwart von Auxin induziert werden könne. Dem stehen BRAUNERS Versuche mit *Helianthus*-Hypokotylen und ein früherer mit *Avena*-Coleoptilen entgegen. Man wird also die Differenz der Ergebnisse aus der verschiedenen Methodik erklären müssen. BRAUNER führte das Auxin nur apikal der Schnittfläche zu, DE WIT allseitig. Vielleicht hemmt hierbei das seitlich und basal eintretende Auxin die Nachkrümmung.

Eine wichtige Ergänzung zur Frage der Nachwirkung bieten Versuche von WEBSTER und SCHRANK (1953), die den Elektrotropismus von Coleoptilstümpfen untersuchten. Coleoptilen wurden durch zweimalige Dekapitation wuchsstofffrei gemacht; dann wurde durch die Stümpfe ein Strom von 20 mA während 2 min geleitet; dabei erfolgte keine Krümmung. Werden die Schnittflächen aber total mit IES versorgt, so krümmen sich die Pflanzen zum +-Pol, d. h. es war jetzt bevorzugtes Wachstum auf der elektronegativen Seite eingetreten. Dieser Erfolg ließ sich sogar dann erzielen, wenn ein IES-Agarplättchen nur auf der Seite des +-Pols aufgesetzt wurde; trotz der unmittelbaren Auxinversorgung dieser Seite verlängerte sich die Gegenseite. Die Autoren betonen, daß das nicht anders als durch Quertransport von Auxin zu erklären sei. Die für die vorliegende Arbeit wichtigste Feststellung ist aber folgende: Der Effekt tritt auch dann ein, wenn die Wuchsstoffversorgung *nach* der elektrischen Reizung erfolgt, es können sogar Pausen bis zu 4 Std eingeschaltet werden. Es ist also gar nicht das Potentialgefälle selbst, welches das Auxin „verschiebt", vielmehr kommt es im Organ zu einer Querpolarisation, die für die Wachstumsdifferenz der Seiten verantwortlich ist. Es liegen also bei Photo-, Geo- und Elektrotropismus in diesem Punkt die gleichen Verhältnisse vor.

Ich möchte dabei auf einige Versuche von KOCH (1934) hinweisen. An Coleoptilen wurde eine Spitzenlängshälfte entfernt; sie waren somit wie im Versuch

von WEBSTER und SCHRANK nur einseitig mit Wuchsstoff versorgt und krümmten sich stark in diesem Sinne. Wurden die Pflanzen aber frontalsenkrecht zum erhaltenen Spitzenteil beleuchtet, so wurde die Wuchsstoffkrümmung weitgehend abgebremst. Ebenso gelang es, die geotropische Krümmung von *Helianthus*-Hypokotylen durch gegensinnigen Strom sehr stark herabzusetzen. Auch hier zeigt sich, daß bei allen 3 Tropismen große Übereinstimmung herrscht.

Anschließend wäre noch eines bekannten Versuches von BOYSEN-JENSEN (1928) zu gedenken, den BRAUNER kürzlich wiederholte und bestätigte. Coleoptilspitzen werden senkrecht zur Breitseite median längs gespalten und in den Spalt ein dünnes Glasplättchen eingefügt. Beleuchtet man nun parallel zum Spalt, so gibt es starke Kümmungen, fällt das Licht aber senkrecht dazu ein, so ist die Krümmung minimal. Sie verstärkt sich indessen erheblich, wenn man die Spitzenhälften ohne Glas zusammenpreßt. Es hat also irgendeine Stoffquerwanderung stattgefunden, die für die Krümmung von Bedeutung ist. Dazu ist indessen nicht die ganze Spitze erforderlich, denn KOCH zeigte, daß sich auch eine frontal beleuchtete Spitzenhälfte selbst phototrop krümmen kann. Es gibt also einen Gradienten dieser Stoffverschiebung.

Schließlich muß auch auf die Versuche eingegangen werden, deren Zweck es war, die Frage der Querverschiebung dadurch zu lösen, daß man radioaktive IES verwendete. BÜNNING u. Mitarb. (1953b) führten die ersten Versuche dieser Art aus. Durch einseitige Beleuchtung wurde die gleichmäßige Verteilung apikal zugeführter IES (2-^{14}C) nicht verändert. Entsprechendes fand dann REISENER (1957) für den Geotropismus. In beiden Arbeiten wird aber nicht weiter darauf eingegangen, daß der natürliche Wuchsstoff in den Versuchen offenbar seitenverschieden war, sonst wäre es ja zu keiner Krümmung gekommen. Daraus könnte man schließen, daß die zugeführte IES irgendwie „festgehalten" würde.

In diesem Sinne äußerten sich CHING und FANG (1958), die ihre Versuchsobjekte (Keimpflanzenteile von Erbse, Bohne und Mais) in die radioaktive Lösung tauchten; hier wurde sie also ohne Verlust der Spitze zugeführt. Die Genannten fanden nach geotroper Reizung gleiche Mengen der radioaktiven IES in Sprossen und Wurzeln auf beiden Seiten. Da sie aber aus dem Trockenmaterial nur sehr wenig markiertes Auxin extrahieren konnten, glauben sie, daß der größte Teil an Plasma gebunden sei. GORDON und EIB (1956) konnten indessen einen ganz normalen Längstransport radioaktiver IES feststellen, wieder aber keine Querverschiebung nach einseitiger Beleuchtung erkennen. Auf das hin lehnen sie die Theorie des Quertransportes ab. In einer neueren, mir nicht zugänglichen, von CHING und FANG zitierten Mitteilung GORDONS (1957) hält dieser aber den Quertransport des pflanzeneigenen Auxins doch für möglich. Man könnte aus allen diesen Versuchen vielleicht schließen, daß die zugeführte radioaktive IES zwar nicht verschoben wird, aber eine Änderung erfährt, bei der zwar die Radioaktivität erhalten bleibt, die Wirkung aber sich verändert.

Die vorliegende Arbeit war im Manuskript bereits fertiggestellt, als ich mit einer eben erst erschienenen weiteren Arbeit von REISENER (1958) bekannt wurde, der nunmehr ausführlicher über phototrope Versuche unter Verwendung radioaktiver IES berichtet. Es wird festgestellt, daß das gebotene Auxin zum größten Teil in der Spitzenzone

verbleibt und nur geringe Mengen weitertransportiert werden. Ferner wird das Ergebnis von CHING und FANG bestätigt, daß sich die gebotene radioaktive Substanz mit Äther nicht mehr extrahieren läßt, also offenbar „gebunden" wurde. Eine quere Verschiebung dieses Auxins wurde auch diesmal nicht beobachtet. Für unsere Betrachtung ist aber folgender Befund am wichtigsten: „Bei Lichtmengen der zweiten positiven Krümmung kann in vitro keine Photolyse der IES festgestellt werden. Die Bedeutung der IES Photoinaktivierung muß für die 1. und die 2. postive Krümmung bezweifelt werden." Nur die hohen Lichtmengen der 3. positiven Krümmung zerstören in vitro einen Teil der IES. Die in der vorliegenden Arbeit mitgeteilten Versuchsresultate zeigen indessen eindeutig, daß in vivo auch solche Lichtmengen nicht durch Auxinzerstörung sondern auf ganz andere Weise phototrop wirksam werden.

Es ist schwer, sich auch nur eine hypothetische Vorstellung zu bilden, die mit all diesen Ergebnissen vereinbar wäre. Jeder Versuch einer weiteren Deutung muß davon ausgehen, daß dem Phototropismus ein Primäreffekt zugrunde liegt, der sich auch ohne Auxin abspielt. Das gleiche gilt für den Geo- und Elektrotropismus. Diese Primäreffekte aufzuklären wäre die nächste und wichtigste Aufgabe. Da auch bei Photo- und Geotropismus ein elektrisches Potential nachgewiesen wurde, scheint es nicht ganz ausgeschlossen, daß es sich um den gleichen Effekt handelt.

BRAUNER denkt für den Geotropismus an eine dem Potentialgefälle entsprechende Verlagerung leichtbeweglicher Ionen, vor allem an H^+-Ionen. Er hält es aber auch für möglich, daß ein Cofaktor der IES nach unten wandert und diese seitenverschieden aktivieren oder inaktivieren könnte. Doch ist folgendes zu bedenken. Der fragliche Faktor wirkt auf das in der Spitze neugebildete Auxin, ferner auf zugeführte IES, aber auch auf körperfremde Auxine. Er muß also allgemeiner Natur sein und nicht speziell auf die IES ausgerichtet. Eine entsprechende Ionenverlagerung könnte auch beim Photo- und Elektrotropismus eintreten. Der Versuch von BOYSEN-JENSEN wäre auf diesem Wege zu verstehen.

Ist der Primäreffekt rein physikalischer Natur, so wäre er wohl nicht an die Gegenwart von O_2 gebunden. Wenn nun eine solche für die Nachwirkung unerläßlich ist, so könnte man das so verstehen, daß der Primäreffekt einen anschließenden chemischen Vorgang nur dann auslösen kann, wenn für diesen O_2 zur Verfügung steht. Es würde sich also um einen Vorgang handeln, der von der Atmung abhängt. Wir konnten vor kurzem zeigen (v. GUTTENBERG und ZETSCHE 1956/57, REIFF und v. GUTTENBERG 1959), daß der Längstransport des Auxins Atmungsenergie benötigt, ohne daß aber über die Ursachen der Längspolarität etwas ausgesagt werden kann. Wird nun eine zuständige Querpolarität geschaffen, so könnte auf gleiche Weise ein Teil des Wuchsstoffes *aktiv* quergeleitet werden.

Schließt man aus den Versuchen mit markierter IES, daß kein Quertransport stattfindet, so müßte der Primäreffekt die Enzymatik beider Seiten konträr beeinflussen, und zwar so, daß auf der einen Seite das Auxin aktiviert, auf der anderen inaktiviert wird. Weitere Unter-

suchungen müßten sich also mit dieser Möglichkeit und der Frage des freien und gebundenen Auxins beschäftigen. Indessen muß gesagt werden, daß die genannten Versuche von WEBSTER und SCHRANK (entsprechend auch die von KOCH) mit einer solchen Erklärung unvereinbar erscheinen. Sie stimmen mit dem Gedanken überein, daß die induzierte Querpolarisation den Anlaß zu einem nachträglichen Auxinquertransport gibt; im anderen Falle könnte der Wuchsstoff höchstens am +-Pol inaktiviert werden, nicht aber auf der Gegenseite aktiviert, weil er dort ganz fehlt; so wären beide Seiten im Wachstum gehemmt und es käme überhaupt nicht zu einer Krümmung.

Ich betone nochmals, daß diese letzten Ausführungen rein hypothetischer Natur sind; sie haben aber vielleicht für weitere Bemühungen einen heuristischen Wert.

Zusammenfassung

1. Als optimale IES-Konzentration für einseitig beleuchtete, 4 mm dekapitierte Coleoptilen von *Avena sativa* wurde 5×10^{-7} g/cm³ festgestellt.

2. Nach etwa $2^1/_2$ Std beginnt an Stümpfen die Regeneration einer physiologischen Spitze. Nach ungefähr 10 Std gleicht deren Erregbarkeit und Auxinproduktion der von normalen Spitzen.

3. Die hohe Empfindlichkeit der Spitze gegen einseitigen Lichtreiz ist eine Realität und nicht durch lokale Schattenwirkung des Xanthophylls vorgetäuscht. Der plötzliche rapide Abfall der Empfindlichkeit unterhalb der Spitzenzone steht in gar keinem Verhältnis zur Abnahme des Xanthophyllgehaltes.

4. Die Schattenwirkung schwarzen Papiers übertrifft die der Primärblätter nur wenig. Der Pigmentgehalt des Blattes erhöht die Reaktion des basalen wenig erregbaren Stumpfes beträchtlich.

5. Mehr oder weniger wuchsstofffreie Stümpfe zeigen, nach einseitiger Beleuchtung ins Dunkle gebracht und nachträglich mit IES versorgt, starke Krümmungen.

6. Die Nachwirkung ist in gemindertem Ausmaß noch nach 8 Std zu beobachten und erst nach etwa 12 Std erloschen.

7. Nach längerer antagonistischer Beleuchtung wirkt nachträglich einseitig aufgesetztes Auxin in normaler Weise.

8. Aus den Ergebnissen 5—7 folgt, daß die phototrope Reaktion nicht auf einer photolytischen Zerstörung von IES beruht; auch kann der *primäre* Effekt nicht in einem Quertransport des Auxins bestehen.

9. In Stickstoffatmosphäre tritt an intakten Coleoptilen keine phototrope Reizung ein. An dieser muß also ein chemischer Vorgang beteiligt sein, der sich nur bei Gegenwart von O_2 abspielen kann. Werden Stickstoffpflanzen in reine Luft gebracht, so sind sie, wenn auch in

vermindertem Ausmaß, wieder reizbar; nach 4 Std läßt sich vollkommene Erholung feststellen.

10. Bei einer Temperatur von $+5^0$ zeigen einseitig beleuchtete intakte Coleoptilen keine Reaktion. Nach Übertragung in 22^0 tritt eine verminderte Nachwirkung ein. Kälte schaltet die Perzeption also nicht aus, doch ist der Vorgang temperaturabhängig, was wieder auf einen chemischen Prozeß hindeutet.

11. Die Diskussion ergibt, daß Photo- und Geotropismus einander viel näherstehen, als man bisher annahm, und auch auffällige Beziehungen zum Elektrotropismus bestehen. In allen 3 Fällen wirkt die *Reizung* ohne Gegenwart von Auxin. Es müssen sich also im Plasma primäre Vorgänge abspielen, die zu einer Seitenverschiedenheit (Querpolarisation) führen und erst sekundär auf das Auxin einwirken.

Literatur

AMEIJDEN, U. P. VAN: Geotropism and phototropism in the absence of free oxygen. Rec. Trav. bot. néerl. **14**, 149—214 (1917). — BOYSEN-JENSEN, P.: Die phototropische Induktion in der Spitze der Avena-Coleoptile. Planta (Berl.) **5**, 464—477 (1928). — BRAUNER, L.: Lichtkrümmung und Lichtwachstumsreaktion. Z. Bot. **14**, 497—547 (1922). — Induktion phototropischer Reaktionen durch ein künstliches Perzeptionsorgan. Experientia (Basel) **8**, 102—106 (1952). — Über den Mechanismus der Photolyse des Heteroauxins. Naturwiss. **40**, 23 (1953a). — Untersuchungen über die Photolyse des Heteroauxins. I. Z. Bot. **41**, 291—341 (1953b). — Über die Funktion der Spitzenzone beim Phototropismus der Avena-Coleoptile. Z. Bot. **43**, 467—498 (1955). — The perception of the phototropic stimulus in the oat coleoptile. Symp. Soc. exp. Biol. **11**, 86—94 (1957). — BRAUNER, L., u. M. BRAUNER: Untersuchungen über die Photolyse des Heteroauxins. II. Z. Bot. **42**, 83—142 (1954). — BRAUNER, L., u. A. HAGER: Über die geotropische „Mneme". Naturwiss. **44**, 429—430 (1957). — Versuche zur Analyse der geotropischen Perzeption. I. Planta (Berl.) **51**, 115—147 (1958). — BÜNNING, E.: Phototropismus und Carotinoide. II. Planta (Berl.) **27**, 148—158 (1937). — Weitere Untersuchungen über die Funktion gelber Pigmente beim Phototropismus der Avena-Coleoptile. Z. Bot. **43**, 167—174 (1955). — BÜNNING, E., I. DORN, G. SCHNEIDERHÖHN u. I. THORNING: Zur Funktion von Lactoflavin und Carotin beim Phototropismus und bei lichtbedingten Wachstumsbeeinflussungen. Ber. dtsch. bot. Ges. **66**, 333—340 (1953a). — BÜNNING, E., H. J. REISENER, F. WEYGAND, H. SIMON u. J. F. KLEBE: Versuche mit radioaktiver Indolylessigsäure zur Prüfung der sogenannten Ablenkung des Wuchshormonstromes durch Licht. Z. Naturforsch. **11** b, 363—364 (1956). — BUY, H. G. DU: Der Phototropismus der Avena-Coleoptile und die Lichtabfallstheorie. Ber. dtsch. bot. Ges. **52**, 530—559 (1934). — CHING, T. M., and S. C. FANG: The redistribution of radioactivity in geotropically stimulated plants pretreated with radioactive indoleacetic acid. Physiol. Plantarum (Kbh.) **11**, 722—727 (1958). — CHOLODNY, N.: Wuchshormone und Tropismen bei den Pflanzen. Biol. Zbl. **47**, 604—626 (1927). — CORRENS, C.: Über die Abhängigkeit der Reizerscheinungen höherer Pflanzen von der Gegenwart freien Sauerstoffes. Flora (Jena), N.F. **50**, 87—151 (1892). — DOLK, H. E.: Concerning the sensibility of decapitated coleoptiles of Avena sativa for light and gravitation. Proc. kon. ned. Akad. Wet. **29**, 1113—1117 (1926). — DOLLFUS, H.: Wuchsstoffstudien. Planta (Berl.) **25**, 1—21 (1936). — GALSTON, A. W.: Riboflavin-sensitized

photooxydation of indoleacetic acid and related compounds. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **35**, 10—17 (1949). — GALSTON, A. W., and R. S. BAKER: Studies on the physiology of light action. II. Amer. J. Bot. **36**, 773—780 (1949). — GORDON, S. A.: Lateral distribution of auxin. Symposium on recent investigation of tropisms held on August 26, 1957 at Stanford University. Palo Alto, California. — GORDON, S. A., and M. EIB: Auxin transport in the phototropic response. Plant Physiol. **31**, XIV (abstr.) (1956). — GUTTENBERG, H. v.: Über das Zusammenwirken von Geotropismus und Heliotropismus in parallelotropen Pflanzenteilen. Jb. wiss. Bot. **45**, 193—231 (1907). — Über die Verteilung der geotropischen Empfindlichkeit in den Coleoptilen der Gramineen. Jb. wiss. Bot. **50**, 289—325 (1911). — Studien über den Phototropismus der Pflanzen. Beitr. allg. Bot. **2**, 139—247 (1922). — Lehrbuch der allgemeinen Botanik, 1. Aufl. Berlin 1951. — GUTTENBERG, H. v., u. KL. ZETSCHE: Der Einfluß des Lichtes auf die Auxinbildung und den Auxintransport. Planta (Berl.) **48**, 99—134 (1956). — KOCH, K.: Untersuchungen über den Quer- und Längstransport des Wuchsstoffes in Pflanzenorganen. Planta (Berl.) **22**, 190—220 (1934). — LANGE, S.: Die Verteilung der Lichtempfindlichkeit in der Spitze der Hafercoleoptile. Jb. wiss. Bot. **67**, 1—51 (1927). — NUERNBERGK, E.: Untersuchungen über die Lichtverteilung in Avena-Coleoptilen und anderen phototropisch reizbaren Pflanzenorganen bei einseitiger Belichtung. Bot. Abh. Heft **12** 162 (1927). — PAÁL, A.: Über phototropische Reizleitung. Jb. wiss. Bot. **58**, 406—453 (1919). — REIFF, B., u. H. v. GUTTENBERG: Über Förderung des polaren Wuchsstofftransportes durch Adenosintriphosphat (ATP). (Vorl. Mitt.) Naturwiss. **46** (1959). — REINDERS, D. E.: Sensibility for light of the base of normal and decapitated coleoptiles of Avena. Proc. kon. ned. Akad. Wet. **37**, 308 (1934). — REINERT, J.: Über die Wirkung von Riboflavin und Carotin beim Phototropismus von Avena-Coleoptilen und bei anderen pflanzlichen Lichtreizreaktionen. Z. Bot. **41**, 103—122 (1953). — REISENER, H. J.: Versuche zum Geotropismus mit radioaktiver β-Indolylessigsäure. Naturwiss. **44**, 120 (1957). — Untersuchungen über den Phototropismus der Hafer-Koleoptile. Z. Bot. **46**, 474—505 (1958). — SIERP, H., u. A. SEYBOLD: Untersuchungen über die Lichtempfindlichkeit der Spitze und des Stumpfes in der Coleoptile von Avena sativa. Jb. wiss. Bot. **65**, 592—610 (1926). — SÖDING, H.: Zur Kenntnis der Wuchshormone in der Haferkoleoptile. Jb. wiss. Bot. **64**, 587—603 (1925). — Weitere Untersuchungen über die Wuchshormone der Hafercoleoptile. Jb. wiss. Bot. **71**, 184—213 (1929). — Die Wuchsstofflehre. Stuttgart 1952. — WEBSTER jr., W. W., and A. R. SCHRANK: Electrical induction of lateral transport of 3-indoleacetic acid in the Avena coleoptile. Arch. Biochem. **47**, 107—118 (1953). — WENT, F. W.: Wuchsstoff und Wachstum. Rec. Trav. bot. néerl. **25**, 1—116 (1928). — WIT, J. L. DE: Growth-substance relations in the Avena coleoptile, studied by means of the geotropic response. Acta bot. neerl. **6**, 1—45 (1957).

Prof. Dr. H. v. GUTTENBERG,
Botanisches Institut der Universität, Rostock, Doberaner Str. 143

Planta 53, 434—448 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Darmstadt

BEZIEHUNGEN ZWISCHEN TRANSPIRATION UND WURZELWERK

Von

WALTER KAUSCH und HEINRICH EHRIG

Mit 14 Textabbildungen

(Eingegangen am 13. April 1959)

A. Einleitung

Die *Wasserabgabe durch den Sproß* und die *Wasseraufnahme* zur Deckung des Bedarfs müssen notwendig in bestimmten Verhältnissen zueinander stehen. Vom Sproß kann nicht verarbeitet oder verausgabt werden, was das Wurzelwerk nicht heranzuschaffen vermag. Da die Wasserabgabe an der ausgedehnten Oberfläche des Sprosses erfolgt, muß ihr auf der Aufnahmeseite ein entsprechender Nachschub folgen. Die außerordentlich weite, vielfache Verzweigung des Wurzelwerks bei den meisten Pflanzen trägt dieser Forderung Rechnung. Man darf nun vermuten, daß eine *erhöhte oder verminderte Wasseranforderung* in der Hauptsache durch *Regulierung der beiden Oberflächengrößen* beantwortet wird. Die offenkundigste dieser Regulierungen ist die *Verkleinerung der abgebenden* Oberfläche bei ungenügenden Bodenwasserverhältnissen wie in ariden Gebieten vor der Trockenzeit, oder bei mangelndem Wasseraufnahmevermögen vor der Winterruhe. Obwohl die *Vergrößerung* der abgebenden Fläche dagegen im allgemeinen ihre innere Ursache im Wachstumsprozeß des Sprosses hat, also nicht primär durch den Wasserhaushalt bedingt ist, gibt es einige ökologische Beobachtungen, die zeigen, daß einer *künstlichen Verkleinerung der Abgabefläche* einer Pflanze ein *verstärktes Sproßwachstum* folgt (eigene kurzfristige Versuche in der algerischen Sahara). Hier dürfte die durch die Tätigkeit des unbeschädigten Wurzelsystems stark positive Wasserbilanz doch eine Rolle spielen.

Die Regulierungen im Wurzelbereich *im Boden* sind bisher noch weniger beachtet worden. Es erwies sich aber z. B. in eigenen früheren Untersuchungen (KAUSCH 1955), daß das Wurzelwerk schnell mit *Wachstumsgeschwindigkeitsänderungen* reagiert, wenn sich der Bodenwassergehalt ändert. Austrocknender Boden löst verstärktes Längenwachstum der Wurzeln aus, und viele Pflanzen arider Gebiete haben, entsprechend dem geringen verfügbaren Bodenwasser, offenbar genetisch angepaßt, ein mächtig ausgedehntes extensives Wurzelwerk (KAUSCH

1959). Der gesteigerte Wasserbedarf des Sprosses scheint danach durch eine Vergrößerung des *Wurzelwerkes* gedeckt zu werden. Umgekehrt müßte sich künstliche *Verkleinerung des Wurzelwerkes* in einer Erniedrigung der Wasserabgabe durch den Sproß kundtun.

B. Die Wirkung experimenteller Veränderung von Wurzel- und Blattoberfläche auf die Transpiration

I. Der Grundversuch in der Nährlösungskultur

1. Versuchsmethodik. Die Transpiration ist durch Wiegen ganzer Pflanzen verhältnismäßig leicht zu messen. Wurzel- oder Blattflächen lassen sich währenddessen durch Beschneidung reduzieren, und die Transpirationsreaktion auf diese Oberflächenveränderung müßte einen Einblick in die Bedeutung der Oberflächen geben.

Diese Methode wird bei allen im folgenden beschriebenen Versuchen im Prinzip angewendet.

Begonnen werden die Versuche mit Pflanzen in Nährlösungskultur (Nährlösung nach PFEFFER), damit ein einwandfreies definierbares Medium vorliegt, und damit die Unsicherheiten der komplexen Boden- und Wasserbedingungen ausgeschaltet sind. Ebenfalls aus Gründen der Definierbarkeit der Faktoren werden die Versuche in der Klimakammer bei jeweils konstanten Bedingungen [Licht (11,5 h Beleuchtungsdauer mit ~6000 Lux), Luftfeuchtigkeit und Temperatur (s. Tabelle 1)] durchgeführt.

Als Kulturgefäße dienten 200 cm^3 Erlenmeyer, die mit einer abnehmbaren Verdunkelung versehen waren. Gegen die Blindverdunstung schirmten Pfropfen aus nichtentfetteter Watte ab. Blindgefäße sicherten die Ergebnisse. Alle Pflanzen wurden im Gewächshaus kultiviert, bis gute Bewurzelung erreicht war. Mehrere Tage der Akklimatisierung in der Klimakammer gingen jeweils dem Versuch voraus. 12—15 Pflanzen bildeten gewöhnlich eine „Versuchsserie".

Die Transpirationsbestimmung durch Wiegen der Erlenmeyerkolben geschah im 24 Std-Abstand auf einer Bosch-Öldämpfungswaage mit ± 10 mg Ablesegenauigkeit. Auf diese Weise wurden 24-Std-Werte = Tageswerte in Gramm, gewonnen, die dann auf $\frac{mg}{dm^2 \cdot h}$ je doppelte Blattfläche umgerechnet die Grundlage der graphischen Darstellung bildeten. Dem experimentellen Eingriff durch Coupieren von Blättern oder Wurzeln ging immer die Feststellung von 3—5 Tageswerten der unveränderten Pflanzen voraus. Nur etwa $^2/_3$ der beteiligten Pflanzen wurden dem Schnitt unterworfen, sodaß auch genügend Anhaltspunkte für das gleichzeitige Verhalten unbeschädigter Pflanzen vorliegen.

Aus einer ganzen Anzahl von Vorversuchen ergab sich, daß das Abschneiden der Wurzeln mit einer Rasierklinge sowohl in physiologischer als auch in versuchstechnischer Hinsicht unbedenklich ist, wenn nach der Coupierung der Sproß so weit angehoben bzw. die Nährlösung so weit gesenkt wird, daß die stehengebliebenen Wurzelstümpfe nicht mehr eintauchen.

Die Blattflächenwerte wurden durch Projizieren der Blätter und Auszählen auf Millimeterpapier gewonnen. Ein quantitatives Maß für die coupierten bzw. ver-

bliebenen Wurzelmengen ergab sich durch Wiegen des Frisch- und Trockengewichtes dieser Wurzeln.

2. Ergebnisse. Nach einer Coupierung der Wurzeln von *Coleus*-Stecklingen[1] um etwa 75% (Kontrolle durch Frisch- und Trockengewicht) fällt der Transpirationswert für die nächsten 24 Std erheblich ab (Abb. 1). *Das Versuchsergebnis beweist die begrenzende Rolle des Oberflächenfaktors.*

Kontrollversuche mit Pflanzen, deren Wurzeln nicht beschnitten, sondern mit kleinen Cellophanbeuteln zu 75% umhüllt und somit lediglich an ihrer Aufnahmefunktion gehindert wurden, ergaben gute Übereinstimmung.

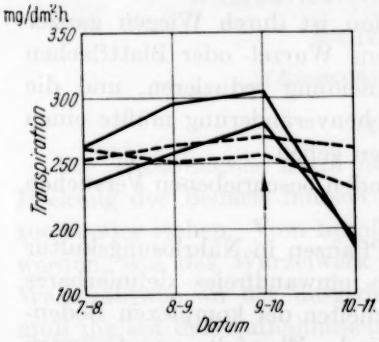

Abb. 1. Transpirationsabfall von *Coeus shirensis* nach Coupierung des Wurzelwerkes um 75%. ↑ Coupierungszeitpunkt, ——— coupierte Pflanzen, — — — Vergleichspflanzen. Transpiration auf doppelte Blattfläche sowie in allen folgenden Abbildungen

Wegen der allgemeinen Bedeutung des Versuchsergebnisses durfte der Grundversuch nicht auf *Coleus* beschränkt bleiben. Deshalb wurden zahlreiche Pflanzen der verschiedensten Konstitution zum Versuch herangezogen. Aber selbst so verschiedene Typen wie *Impatiens* und *Allium*, oder *Vicia* und *Sedum* reagierten in gleicher Richtung.

Die Pflanzen wurden durchweg, wie bereits beschrieben, als Stecklinge angezogen, ausgenommen die in bekannter Weise getriebenen Zwiebelpflanzen *Allium* und *Tulipa*.

Außer dem allgemeinen positiven Resultat ließ sich erkennen, daß die Reaktion verschieden empfindlich verläuft. Zweifellos ist hier ein Zusammenhang mit der Blattstruktur gegeben, wenn z. B. *Pilea* und *Chlorophytum* verhältnismäßig schwach reagieren. Besonders kommt das zum Ausdruck bei *Tradescantia*, die offenbar auf Grund ihres ausgeprägten Blattwassergewebes die Fähigkeit hat, die Wasserabgabe weitgehend unabhängig von der Wasseraufnahme zu regeln. *Tradescantia* ist in dieser Hinsicht noch unempfindlicher als Succulente wie *Sedum* oder *Peperomia*, was wohl auch der Erfahrungstatsache entspricht, daß ihre Stecklingsbildung leichter als bei anderen Pflanzen geschieht. Möglich ist außerdem bei den verschiedenen Pflanzen verschiedene Erhöhung des Wassereinstromes in die Wurzeln nach dem Eingriff.

Frisch austreibende *Allium*-Pflanzen mit noch schwachem Blattwerk reagierten auf Wurzelbeschneidung überhaupt nicht. Die Pflanzen nahmen gleichzeitig auch so gut wie keine Nährlösung auf. Brachte man den Wurzelschnitt aber in einem späteren Stadium nach der Blattbildung an, dann zeigten die Pflanzen die bekannte Reaktion in einem Abfall der Transpiration. Dies findet seine Erklärung darin, daß

[1] Wie schon früher bewährte sich auch bei diesen Versuchen der grüne *Coleus shirensis*, da er sich beliebig durch Stecklinge vermehren läßt und so genügend genetisch einheitliches Material bietet. Als Pflanze mit weiten physiologischen Toleranzen verträgt er außerdem die Gewächshauskultur ausgezeichnet.

im Jugendstadium die Zwiebel als Reservoir dient, aus dem offenbar auch das zur Transpiration nötige Wasser geschöpft wird. Die Wurzeln spielen in diesem Zeitpunkt eine noch untergeordnete Rolle. Es läßt auf eine hohe genetische Anpassung an die natürlichen Verhältnisse schließen, daß die *Allium*wurzeln, die dem kalten Boden im Frühjahr noch wenig Wasser entreißen können auch darauf verzichten, wenn dies im vereinfachten Experiment durchaus möglich wäre.

3. Die Reaktion bei Coupierung unter verschiedenen Außenbedingungen. Die seitherigen Ergebnisse erlauben den Schluß, daß eine Einschränkung der Wurzeloberfläche einer Pflanze gewöhnlich auch zu einer Transpirationseinschränkung führt. Mit Absicht waren alle diese Versuche bei einheitlichen Klimakammer-Bedingungen durchgeführt worden. Um nun die Zusammenhänge der Regelung zwischen Wurzelfläche und Transpiration weiter aufzuklären, wurden noch Beschneidungsversuche (50% Wurzelcoupierung) bei anderen Klimakammerbedingungen angestellt (Tabelle 1).

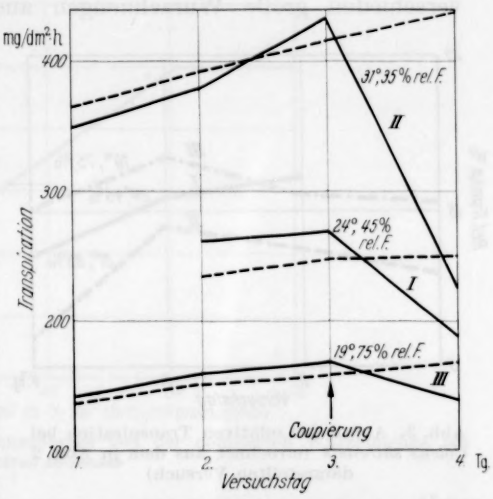

Abb. 2. Transpirationsabfall bei *Coleus shirensis* bei verschieden hohem Transpirationsniveau (durch verschieden starke Evaporation). Wurzelcoupierung in allen Fällen 50 %. Die Zahlen I, II, III entsprechen der Numerierung in Tabelle 1. ↑ Coupierungszeitpunkt, ——— coupierte Pflanzen, — — — Vergleichspflanzen

Das Ergebnis ist aus Abb. 2 zu entnehmen. *Je höher die Evaporation und damit die Flächentranspiration, desto größer ist die Transpirationssenkung nach dem Schnitt.* Von der Transpiration aus gesehen ist der Abfall also um so größer, je höher das Transpirationsniveau liegt. Eine Erklärung dieser Erscheinung ergibt sich wiederum aus der begrenzenden Rolle der Wurzeloberfläche. Bei Erhöhung der Evaporation steigt die Transpiration nämlich nicht relativ im gleichen Maße an, d. h. die *relative Transpiration* (Abb. 3) sinkt. Dem Wassereintritt durch die Wurzeln stellen sich anscheinend dann größere Widerstände entgegen. Jede Verkleinerung der Wurzeloberfläche führt unter diesen

Tabelle 1. *Klimakammer — Versuchsbedingungen*

	Temperatur	Relative Luftfeuchtigkeit	Lux	Beleuchtungsdauer
I	24° C	45%	3500	11,5 Std/Tag
II	31° C	35%	3500	11,5 Std/Tag
III	19° C	75%	3500	11,5 Std/Tag

Umständen zu einer weiteren Zunahme des Durchtrittswiderstandes für das Wasser.

4. Verschieden starker Wurzelbeschnitt. Werden im Experiment verschieden große Wurzelmengen ausgeschaltet, so folgt *steigender Wurzelbeschneidung vermehrter Transpirationsrückgang* (Abbildung 4).

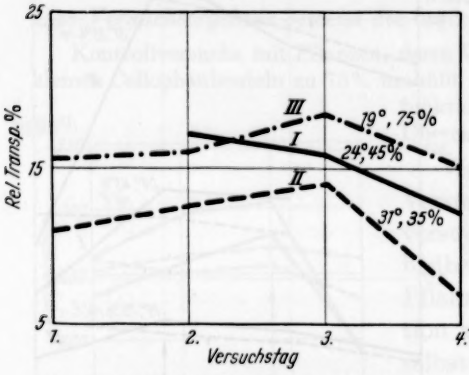

Abb. 3. Abfall der relativen Transpiration bei *Coleus shirensis* (errechnet aus dem in Abb. 2 dargestellten Versuch)

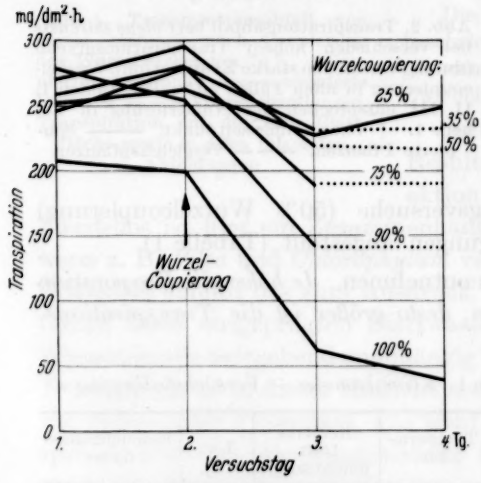

Abb. 4. Abfall der Transpiration bei *Coleus shirensis* nach verschieden starker Wurzelcoupierung. Der steiler werdende Abfallwinkel ist deutlich erkennbar

Im Beispiel von *Coleus* ist der Rückgang aber nicht beliebig groß. Er beträgt bei 100%iger Wurzelbeschneidung etwa 60%, d. h. bei völliger Coupierung der Wurzeln wird durch die in die Nährlösung hängende Stengelschnittfläche (bzw. durch die Wurzelstümpfe) noch ~40% der ursprünglichen Flüssigkeitsmenge angesaugt. Wie aus Abb. 2 ersehen werden kann, entspricht auch bei geringer Coupierung der Transpirationsabfall prozentual nicht ganz der abgeschnittenen Wurzelmenge. Trägt man in einem Diagramm die entfernte Wurzelmenge in Abhängigkeit vom relativen Abfall der Transpiration auf, dann erhält man als Mittelkurve eine Gerade, die nach oben (vollständige Wurzelcoupierung) bei etwa 60% Abfall endet, und die bei 0% Abfall die Ordinate in Höhe von ~20% coupierter Wurzelmenge schneidet (Abb. 5). Das bedeutet, daß unter den gegebenen Versuchsbedingungen bei *Coleus* sich erst eine Wurzelcoupierung von ~20% in einem Transpirationsabfall der 24 Std-Transpiration bemerkbar macht. Bemerkenswert ist die Linearität der Wurzelmengen/Transpirationskurve.

Zum Teil liegt dieses Ergebnis wohl darin begründet, daß jeder Transpirationswert über 24 Std integriert ist. In dieser Zeit wachsen aber Sproß und Wurzeln weiter, so daß sich im Laufe eines Tages die Coupierung wenigstens zum Teil wieder

ausgleichen kann. Ein Berechnen der Werte auf die *Vergleichspflanzen* würde deshalb insofern ein richtigeres Bild liefern, als dann die inzwischen zugewachsene Wurzelmenge mit berücksichtigt wäre.

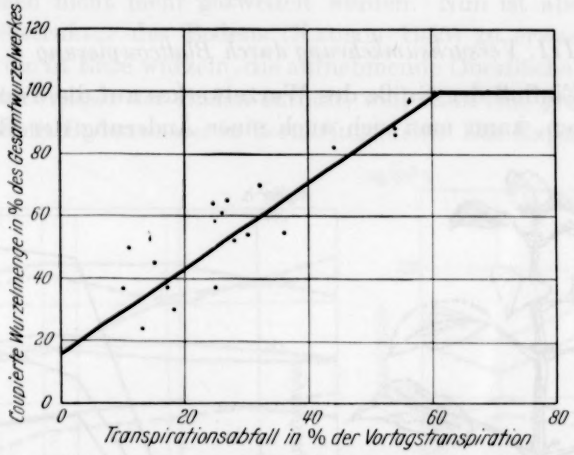

Abb. 5. Abhängigkeit des Transpirationsabfalles von der coupierten Wurzelmenge bei *Coleus shirensis*

Auch eine Zunahme der Durchströmungsgeschwindigkeit ist durch gleichzeitige Permeabilitätssteigerung möglich (KRAMER 1956).

II. Versuche in Erdkulturen

Auch bei in Erde wurzelnden Pflanzen ist eine Abhängigkeit der Transpiration von der Wurzeloberfläche gegeben (Abb. 6). Man erkennt den Tran-

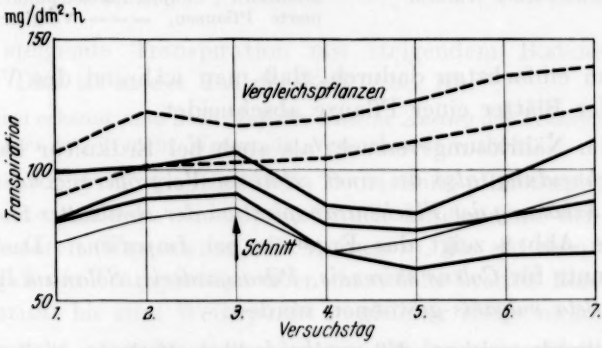

Abb. 6. Transpirationsabfall beim „zweibeinigen" *Coleus* durch Ausschaltung einer Hälfte des Wurzelwerkes. ↑ Coupierungszeitpunkt, ——— coupierte Pflanzen, – – – Vergleichspflanzen

spirationsabfall nach der Coupierung und den Wiederanstieg nach 2 Tagen, der durch inzwischen nachgeholtes Wurzelwachstum bewirkt wird.

Bei in Erde wurzelnden Pflanzen erweist es sich als schwieriger, in einwandfreier Methodik die Ausschaltung eines Teils des Wurzelwerks zu erreichen. Man kann dies z. B. so ermöglichen, daß die Stecklinge *(Coleus)* „zweibeinig" angezogen und

je Pflanze in zwei verdunkelte Bechergläser gepflanzt werden (Abb. 7). Zur Beschneidung wird dann während des Versuches das eine Becherglas mit flüssigem Paraffin-Vaseline-Gemisch durchtränkt und darin die Wurzeln abgetrennt.

III. Versuchsumkehrung durch Blattcoupierung

Um den Einfluß der Größe des Wurzelwerkes auf die Transpiration zu untersuchen, kann man sich auch einer Änderung der Blattfläche

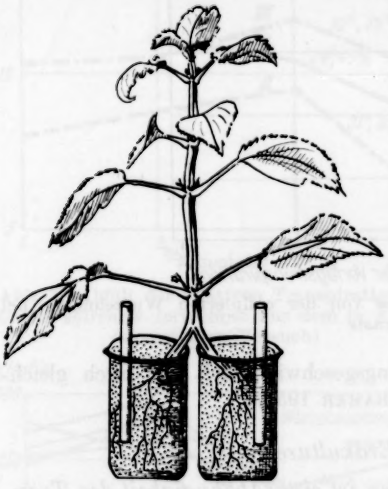

Abb. 7. „Zweibeiniger Coleus" zur Transpirationsmessung nach Beschneidung in Erde gewachsener Wurzeln

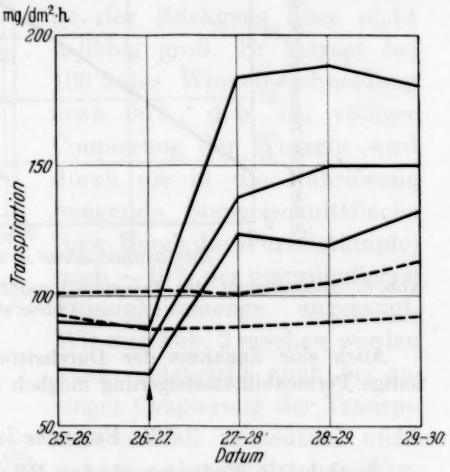

Abb. 8. Transpirationsanstieg bei *Impatiens Sultani* nach Blattbeschneidung (Nährlösungspflanzen). ↑ Coupierungszeitpunkt, —— coupierte Pflanzen, – – – Vergleichspflanzen

bedienen, am einfachsten dadurch, daß man während des Versuches einen Teil der Blätter einer Pflanze abschneidet.

Sowohl im Nährlösungsversuch, als auch bei Erdkultur kann *nach der Blattbeschneidung, also bei einer relativen Vergrößerung des Wurzelwerkes, eine Erhöhung der Flächentranspiration der Restblätter* festgestellt werden. Die Abb. 8 zeigt das Ergebnis bei *Impatiens*. Das gleiche Ergebnis konnte für *Coleus shirensis*, *Pilea garderii*, *Solanum lycopersicum*, sowie *Beta vulgaris* gewonnen werden.

Auch hier wurde gesichert, daß weniger radikale Methoden, z. B. das Ausschalten eines Teils der Blätter durch Umhüllung mit Cellophanbeuteln, das gleiche Ergebnis lieferten.

Als Experimentum crucis könnte man den Test bezeichnen, bei dem im Nährlösungsversuch gleichzeitig ~50% der Blätter und der Wurzeln geschnitten wurden. Wie theoretisch erwartet werden mußte, stellte sich keine Änderung der Flächentranspiration ein (Abb. 9).

IV. Die Transpiration bei verschiedenem Wassergehalt

An der Wirkung des Wurzeloberflächenfaktors auf die Transpiration kann danach nicht mehr gezweifelt werden. Nun ist aber auf Grund der Mosaikstruktur des Bodens (KAUSCH 1955) zu erwarten, daß bei Pflanzen, die in Erde wurzeln, die aufnehmende Oberfläche um so größer ist, je mehr Wasser der Boden enthält, weil dann eine größere Wurzeloberfläche mit Bodenwasser in Berührung steht. Das Experiment müßte

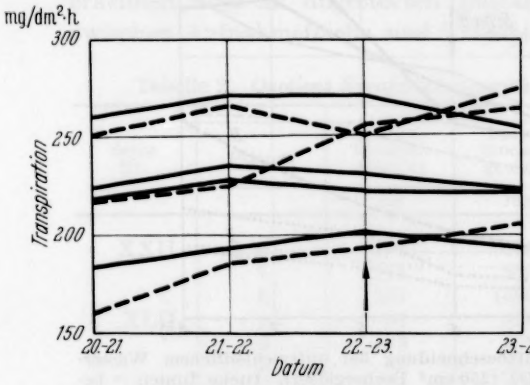

Abb. 9

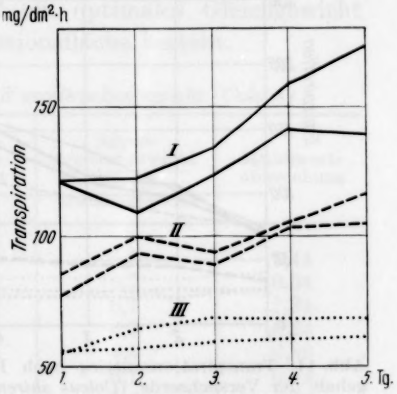

Abb. 10

Abb. 9. Transpirationsverlauf nach gleichzeitiger Blatt- und Wurzelcoupierung (je 50 % bei *Coleus*) Nährlösungskultur. ——— coupiert, – – – nicht coupiert

Abb. 10. Transpiration bei unterschiedlichem Wassergehalt der Versuchserde *(Coleus shirensis)* (250 cm³ Bechergläser). *I* ——— Wassergehalt normal, nicht näher bestimmt, *II* – – – Wassergehalt stets 50 cm³ höher als bei *I*, *III* ····· Wassergehalt stets 100 cm³ höher als bei *I*

deshalb steigende Transpiration mit steigendem Bodenwassergehalt ergeben. Dies ist in der Tat der Fall (Abb. 10).

Nebenbei erkennt man noch, daß der *zeitliche Anstieg* der Transpirationskurven um so stärker ist, je mehr Wasser die Versuchserde enthält.

Dies ist nicht nur wichtig für die Beurteilung pflanzenphysiologischer Experimente, sondern widerspricht auch anscheinend der Auffassung älterer Autoren (VEIHMEYER, HENDRIKSON), die auf dem Standpunkt stehen, daß die Transpiration über einen sehr breiten Bereich von der Feldkapazität bis zum Welkepunkt in gleicher Höhe verlaufe[1].

Untersucht man bei verschiedenen Bodenwassergehalten die Reaktion der Transpiration im Coupierungsexperiment, so zeigt sich, daß der Flächentranspirations*anstieg* nach der Blattcoupierung relativ um so größer wird, je mehr Wasser die Erde des Versuchsgefäßes enthält (Abb. 11).

[1] Über die Abhängigkeit der Transpiration vom Wassergehalt des Bodens sind noch weitere Untersuchungen im Gange.

Einem stärkeren Abfall der Transpiration bei Erschwerung des Nachschubs steht so folgerichtig ein stärkerer Anstieg bei seiner Erleichterung gegenüber.

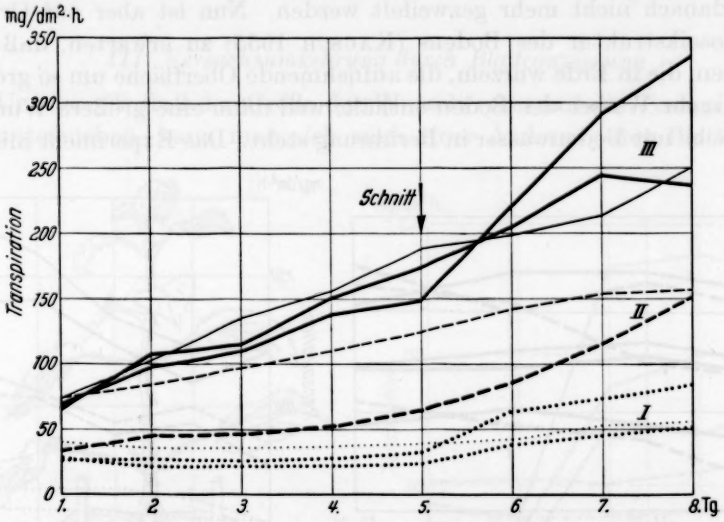

Abb. 11. Transpirationsanstieg nach Blattbeschneidung bei unterschiedlichem Wassergehalt der Versuchserde *(Coleus shirensis)* (250 cm³ Bechergläser). Dicke Linien = beschnittene Pflanzen, dünne Linien = Vergleichspflanzen. *I* ····· Wassergehalt normal, nicht näher bestimmt, *II* – – – Wassergehalt stets 30 cm³ höher als bei *I*, *III* —— Wassergehalt stets 70 cm³ höher als bei *I*.

V. Modellversuch

Die Größe der Wasseraufnahmefläche ist sogar in einem einfachen physikalischen Modellversuch entscheidend für die Wasserverdunstungsmenge einer porösen Tonkugel.

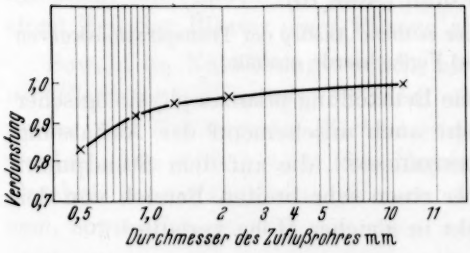

Abb. 12. Abhängigkeit der Evaporation eines Verdunstungskörpers vom Querschnitt des Wasserzuleitungsrohres. Abscisse: ⌀ des Zuflußrohres in Millimeter. Ordinate: Evaporation des Verdunstungskörpers mit verändertem Zuflußquerschnitt im Verhältnis zum unveränderten Zufluß

Vergleicht man die Verdunstung zweier Tonkugeln (Oberfläche 100 cm²), von denen der einen durch ein weites Zuführungsrohr (⌀ 15 mm), der anderen durch ein enges Zuführungsrohr (⌀ 4 mm) das Wasser zugeleitet wird, dann *ergibt sich eine erhebliche Differenz zugunsten des Weitrohr-Evaporimeters* (in 100 Std 15—20 cm³).

Selbstverständlich wurde durch Vertauschen der Tonkugeln sowie Standortwechsel der beiden Evaporimeter dafür gesorgt, daß keine zufälligen Ungleichheiten das Ergebnis beeinflußten.

In einem Konstanzraum-Reihenversuch (Abb. 12) ließ sich die mit abnehmendem Capillardurchmesser abnehmende Verdunstungsmenge ermitteln.

C. Das Sproß-Wurzelverhältnis

I. Der Quotient Sproßgewicht/Wurzelgewicht als Konstante

Das Sinken der Transpiration nach Wurzelbeschneidung und das relative Steigen derselben nach Verkleinerung der Blattfläche lassen erkennen, daß im ungestörten Zustand ein optimales Gleichgewicht zwischen Aufnahmefläche und Transpirationsfläche besteht.

Tabelle 2. *Quotient Sproßtrockengewicht/Wurzeltrockengewicht (Coleus)*

Serie Nr.	Pflanze	Wurzeltrockengewicht mg	Sproßtrockengewicht mg	Sproßtrockengewicht / Wurzeltrockengewicht	Mittelwertabweichung
XXII	6	102	690	6,8	1,44
	7	111	570	5,7	0,34
	8	251	1680	6,7	1,34
XLII	1	91	830	6,3	0,94
	2	183	570	4,5	0,86
	3	84	515	6,1	0,74
	4	157	760	4,8	0,56
XLI	4	142	775	5,5	0,14
	5	145	665	4,6	0,76
	8	123	600	4,9	0,46
XXX	2	134	690	5,2	0,16
	3	134	550	4,1	1,26
	5	123	500	4,1	1,26
XXXIX	3	94	525	5,3	0,06
	6	90	440	4,4	0,96
	7	64	380	5,9	0,54
XXXVII	8	113	540	4,8	0,56
	9	74	370	5,0	0,36
	10	66	360	5,5	0,14
XXX	5	99	650	6,6	1,24
	8	203	980	4,8	0,56
	9	160	1025	6,4	1,04
XXVII	5	59	330	5,6	0,24
	7	88	605	6,9	1,54
	8	49	325	6,6	1,24
	10	95	540	5,7	0,34
	11	182	675	3,7	1,66
XXXI	1	117	560	4,8	0,56
	2	49	320	6,5	1,14
	3	83	375	4,5	0,84
	4	92	425	4,6	0,74
	5	127	570	4,5	0,84
				171,4:32	24,96:32
			Mittelwert	$5{,}36 = K_1$	0,78

Unter festgelegten Bedingungen müßte danach das Verhältnis Sproßoberfläche/Wurzeloberfläche einen artkonstanten Zahlenwert ergeben.

Die Auswertung von 32 *Coleus*-Stecklingen, die unter 24° C und 45% rel. Luftfeuchtigkeit bei 11,5 h · 3500 Lux aufgewachsen waren, ergibt nun tatsächlich eine derartige *Konstante*. Statt der Oberflächen wurden die Trockengewichte benutzt, da für die Bestimmung von Wurzeloberflächen immer noch keine befriedigende Methode gefunden ist (Tabelle 2). Bei einem *Mittelwert von 5,36* sind die größten Abweichungen + 1,54 und —1,26, die mittlere Abweichung ±0,78. Wenn man bedenkt, daß trotz der Einheitlichkeit des Versuchsklons jede Pflanze doch noch individuelle Eigentümlichkeit mitbringt, die hier wohl hauptsächlich in der Herkunft von Verzweigungen verschiedenen Grades der Mutterpflanze begründet sind, und die sich auf verschieden starke Verholzung und Ausbildung der Gefäße erstrecken, dann ist die Schwankungsbreite nicht groß.

Die Auswertung einer Anzahl von Stecklingen, die nach unserer Erfahrung zeitlich noch nicht ganz in den Bereich des optimalen Verhältnisses hineingewachsen waren, ergab demgegenüber den Quotienten 8,6, obwohl das Transpirationsniveau dieser Pflanzen sich dem Optimum stark näherte. Damit ist die Empfindlichkeit des hier dargestellten Zahlenverhältnisses erwiesen.

Obgleich sich für jede Species ein anderer Quotient ergeben wird, soll eine allgemeine Formel angegeben werden, die den Befund veranschaulicht.

$$S = kx \cdot W$$

wobei S = Sproßtrockengewicht, W = Wurzeltrockengewicht, und kx = ein komplexer Faktor bedeutet, der für eine Pflanzenart (k) unter gleichen Bedingungen (x) eine Konstante ist.

II. Die Beeinflussung des Quotienten durch Außenbedingungen

Da die Beschneidungsversuche auch unter anderen Klimaeinstellungen gemacht worden sind, scheint es von Interesse, für diese ebenfalls den Sproß-Wurzel-Quotienten festzustellen.

Dabei ergibt sich (für *Coleus*): *Bei höherer Evaporation* (+ = 31°, rel. F. = 37%) *verschiebt sich das Sproß-Wurzel-Verhältnis zugunsten der Wurzeln.* Der mittlere Quotient beträgt nun 3,6. *Verschärfte Evaporationsbedingungen haben also sogar bei Nährlösungskultur ein verstärktes Wurzelwachstum zur Folge.* Schwächere Evaporation bewirkt den gegenteiligen Effekt. Bei 19° C und 70—75% rel. Feuchte beträgt der Quotient 7,9. Die Pflanze scheint also imstande zu sein, die Oberflächengröße des Wurzelwerkes je nach Bedarf durch Wachstum zu regulieren.

Die verschiedenen Sproß-Wurzelquotienten wurden aber auch unter verschiedenen Temperaturbedingungen erzielt. Streng genommen muß dieser Temperatureinfluß noch ausgeschaltet werden, wenn die alleinige Wirkung erhöhter Evaporation klar erwiesen werden soll. Solche Experimente sind vorbereitet.

D. Diskussion

Frühere Untersuchungen hatten die Pflanzenwurzel als fortgesetzt wachsendes Organ gezeigt, dessen Aufgabe es ist, das Bodenwasser zu erschließen. Die Bedeutung einer sehr feinen Aufgliederung des Wurzelkörpers im Sinne einer Oberflächenvergrößerung und seine dynamische Veränderung wird dadurch angedeutet (KAUSCH 1955).

Hieraus ergibt sich die Frage nach der physiologischen Bedeutung *der wirksamen Aufnahmeoberfläche* als begrenzendem Faktor für den Wasserhaushalt. Relative Verminderung des Wurzelwerkes im Beschneidungsexperiment (dem Sproß gegenüber)[1] bringt nun tatsächlich einen Abfall, relative Vergrößerung (durch Beschneiden der Blattfläche) bringt einen Anstieg der Blattflächentranspiration. Dies bedeutet, daß die *Größe der wasseraufnehmenden Wurzeloberfläche* in der Tat einen *Engpaß in der Wasserversorgung darstellt.*

Im Experiment ergibt sich eine klare Beziehung zwischen Transpirations*abfall* und ausgeschalteter Wurzel*menge* sowie der *Höhe* der *Evaporation.* Verstärkte Wasserausgaben des Sprosses führen (bei gegebenen Wasserverhältnissen des Wurzelmediums) demzufolge genauso zu einer Anspannung der Versorgungslage, wie künstliche Beschränkung der Aufnahmeoberfläche. Jede Entlastung des aufnehmenden Systems durch *Ausschaltung* eines Teils der transpirierenden *Blätter* macht sich in einer Flächen*transpirationserhöhung* bemerkbar. Es darf angenommen werden, daß der Wasserzustand der assimilierenden Blattzellen, die in das Puffersystem des Transpirationsstroms eingebettet sind, erst dann in Mitleidenschaft gezogen wird, wenn die Regelung durch dieses abschirmende System nicht mehr ausreicht. Getrennter Verlauf von Assimilation und Transpiration im Tagesgang, wie er schon mehrfach diskutiert wurde (STOCKER 1954, STOCKER, VIEWEG, LEYERER 1954), ist so durchaus erklärlich.

Die Transpirationsänderung geht deshalb vermutlich weder mit Quellungs- und Entquellungserscheinungen in den peripheren Zellschichten der Blätter (incipient drying) noch mit Änderungen in den Spaltenweiten einher[2].

Die Wurzelbeschneidungsversuche lassen erkennen, daß die Senkung der Transpiration nicht voll der ausgeschalteten Wurzelmenge entspricht, und die Hebung nach der Blattcoupierung oft hinter dem prozentual zu erwartenden Wert zurückbleibt. Die Pflanze arbeitet also dem Defizit entgegen. Besonders deutlich tritt das in Abb. 13

[1] Wurzelbeschneidungsexperimente hat schon BIALOGLOWSKI an *Citronen*-Stecklingen durchgeführt, wie erst nach Abschluß der Arbeit gefunden werden konnte. B. erhält dabei eine unserer Abb. 5 homologe Kurve über die Abhängigkeit der Transpiration von der coupierten Wurzelmenge.

[2] In Stichprobenmessungen an *Coleus* konnten keine Änderungen der Spaltenweiten festgestellt werden.

und 14 hervor, wo die Transpiration unter anderem auf das Wurzeltrockengewicht bezogen ist.

Als Erklärung bietet sich die Annahme eines verstärkten Wassereinstromes durch die Zugwirkung der Evaporation, sowie die Annahme einer Permeabilitätserhöhung (KRAMER) der Saugwurzeln. Einen Teil der Kompensation verursacht der 24 Std-Zuwachs der Wurzeln (Abb. 5).

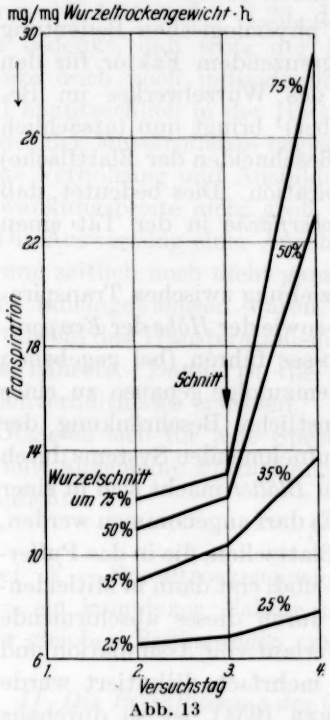

Abb. 13

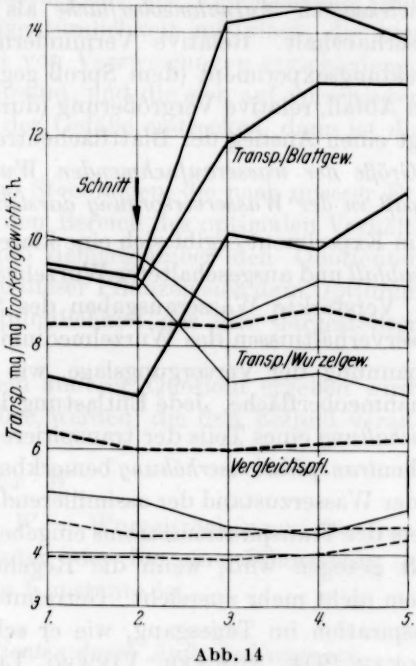

Abb. 14

Abb. 13. Transpiration bezogen auf Wurzeltrockengewicht nach verschieden starker Wurzelbeschneidung (*Coleus shirensis*). ↓ Beschneidung

Abb. 14. Reaktion der Transpiration von *Impatiens* nach Blattbeschneidung. ↓ Beschneidung. Ausgezogene Linien = beschnittene Pflanzen, gestrichelte Linien = Vergleichspflanzen, dicke Linien = Transpiration bezogen auf Blatttrockengewicht, dünne Linien = Transpiration bezogen auf Wurzeltrockengewicht

Nach sehr starker Wurzelcoupierung dürfte allerdings ein Teil der Transpiration wirklich auf Kosten der Wasserbilanz des Sprosses gehen. Bei den mitgeteilten Versuchsreihen war das bei *Coleus* deutlich der Fall, wenn bei hoher Evaporation (31° C, 37% rel. F.) 75% des Wurzelwerkes coupiert wurde; denn dann begannen die Pflanzen zu welken.

Die gleiche Erfahrung kann man bei jeder Stecklingsbewurzelung machen, wo erst dann kein Welken der Pflanzen mehr eintritt, wenn das Wurzelwerk eine Mindestgröße erreicht hat.

Die Beschneidungsexperimente zeigen weiter, daß bereits nach wenigen Tagen der Einbruch der Transpiration wieder völlig ausgeglichen

ist, und daß die Transpirationskurven wieder mit denjenigen der Vergleichspflanzen zusammenfallen. Das bedeutet, daß *hier der Hauptkompensationsvorgang* gegen die zu kleine Wurzeloberfläche stattfindet. *Das Wurzelwachstum wird verstärkt*, bis der optimale Zustand wieder hergestellt ist.

Dieser „*optimale Zustand*" im Verhältnis zwischen Wurzel- und Sproßoberfläche ist eine Realität, die zahlenmäßig erfaßt werden kann. Selbst wenn man aus versuchstechnischen Gründen stellvertretend für die Oberflächen die Trockengewichte benutzt, ergibt sich als *Sproß-wurzelquotient eine Konstante*. Verschiedene Pflanzenarten haben selbstredend verschiedene Quotienten. Änderungen der Außenbedingungen führen zu einer Änderung des Quotienten. Das Wurzelwerk paßt sich durch rascheres oder langsameres Wachstum der neuen Bedarfslage an. Diese Reaktion der Pflanze ist überaus sinnvoll, da damit an der wichtigsten Stelle des Systems, der Aufnahmeoberfläche, reguliert wird.

Änderungen in der *Bodenfeuchtigkeit* rufen, wie früher gezeigt wurde, bei austrocknendem Boden sinnvoll Erhöhung der *Längenwachstumsgeschwindigkeit*, bei Anfeuchtung Anlage von Seitenwurzeln hervor.

Wie jetzt gezeigt werden konnte, bewirken auch Änderungen der Evaporation *Wurzelwachstumsänderungen*.

Damit zeigt sich das Wurzelwerk im Zusammenhang mit der ganzen lebenden Pflanze als ein empfindliches Regelsystem, bei dem der *Oberflächenfaktor Hauptregelfaktor* ist. Die Steuermechanismen dieses Regelsystems allerdings bleiben vorerst noch im Hypothetischen. Zweifellos spielen Wuchsstoffe und ihre Antagonisten eine Rolle (Geisler, Kausch). Es dürften aber auch andere Stoffwechselvorgänge mit im Spiele sein.

Extreme Dauerwirkungen scheinen in einer *genetischen Anpassung* ihren Niederschlag zu finden. So existieren unter Pflanzen arider Gebiete viele mit ausgedehntem extensivem Wurzelwerk (Kausch 1959), während Sumpf- und Wasserpflanzen erfahrungsgemäß nur Wurzeln mäßiger Ausdehnung haben.

Zusammenfassung

Die Arbeit schließt an frühere Ergebnisse an, die die Bedeutung der Aufgliederung des Wurzelwerks im Sinne einer großen Oberflächenbildung erkennen ließen.

In Wurzel- und Blattcoupierungsversuchen von Nährlösungspflanzen ergibt sich eine starke Reaktion der Transpiration auf Änderungen im Oberflächenverhältnis Sproß/Wurzel. Beschneidung des Wurzelwerks führt zum Abfall, Beschneidung des Blattwerks zum Anstieg der Transpiration/Blattflächeneinheit.

Abgestufte Beschneidung führt zu abgestufter Reaktion der Transpiration.

Steigende Evaporationsbedingungen ergeben verstärkte Reaktionen.

Die Reaktionen verlaufen bei Pflanzen von verschiedenem Typus im gleichen Sinne.

Pflanzen in Boden-Topfkultur reagieren sinngemäß wie Nährlösungspflanzen.

Steigender Wassergehalt der Versuchserde führt nicht nur zu steigender Transpiration, sondern auch zu größerem relativen Transpirationsanstieg nach Blattcoupierung.

Abfall bzw. Anstieg der Transpiration entsprechen prozentual nicht vollständig den coupierten Wurzel- bzw. Blattflächen, sondern sie sind kleiner als diese.

Verstärkte Evaporation bewirkt eine Vergrößerung des Wurzelwerkes und eine Verkleinerung des Quotienten Sproßgewicht/Wurzelgewicht. Dieser Quotient ist offenbar für eine Species und gegebene Bedingungen eine Konstante.

Durch Evaporationsänderung läßt sich der Quotient verändern.

Zusammenfassend werden die Ergebnisse diskutiert und die *Oberflächengröße des Wurzelwerks als Regelgröße für die Wasserversorgung* betont.

Literatur

Bialoglowski, J.: Effect of extent and temperature of roots in transpiration of rooted lemon cuttings. Proc. Amer. Soc. horticult. Sci. **34**, 96—102 (1936). — Ehrig, H.: Bedeutung des Sproß-Wurzelverhältnisses für den Wasserhaushalt der Pflanzen. Staatsexamensarbeit Darmstadt 1957. — Geisler, G.: Die Bedeutung des Wurzelsystems für die Züchtung dürreresistenter Rebenunterlagssorten. Vitis **1**, 14—31 (1957). — Kausch, W.: Saugkraft und Wassernachleitung im Boden als physiologische Faktoren unter besonderer Berücksichtigung des Tensiometers. Planta (Berl.) **45**, 217—263 (1955). — Über das Wurzelwerk einiger südalgerischer Wüstenpflanzen. (Im Druck.) — Kramer, P. J.: Physical and physiological aspects of water absorption. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. III. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956. — Stocker, O.: Der Wasser- und Assimilationshaushalt südalgerischer Wüstenpflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **67**, 288—298 (1954). — Stocker, O., G. Leyerer u. G. H. Vieweg: Wasserhaushalt und Assimilation. Schriftenreihe des Kuratoriums für Kulturbauwesen, H. 3, S. 45—77, 1954. — Veihmeyer, F. J., and A. H. Hendrickson: Methods of measuring field capacity and permanent wilting percentage of soils. Soil Sci. **68**, 75—94 (1949). — Veihmeyer, F. J.: Soil moisture. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. III. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.

Dr. Walter Kausch und Stud.-Ref. Heinrich Ehrig,
Botanisches Institut der Technischen Hochschule, Darmstadt, Roßdörferstr. 140

Aufnahmebedingungen

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Für die Rechtschreibung ist die „Wissenschaftliche Rechtschreibung nach JANSEN" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt. Wenn nötig, wird die Angleichung durch die Herausgeber bzw. durch die Druckerei vorgenommen.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photographien. Einzelfiguren einer Abbildung sind, falls es sich um Vorlagen für Strichätzungen handelt, wenn möglich so zusammenzustellen, daß sie in *einem* Klischee bei gleicher Verkleinerung reproduziert werden können. Buchstaben u.a. sind mit Bleistift beizufügen.

Die Texte zu den Abbildungen sind auf eigenem Blatt gesammelt beizugeben.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse (höchstens 1 Seite) anzufügen, die in Deutsch oder Englisch oder Französisch abgefaßt sein kann.

Zu den Literaturverzeichnissen: Bei Zeitschriftenartikeln sollen der Titel sowie erste und letzte Seite angegeben werden. In den Titeln von Büchern aller Sprachen sollen, zur Kennzeichnung gegenüber Artikeln in Zeitschriften, Substantiva wie Adjektiva groß, dagegen in den Abkürzungen von Zeitschriftentiteln die Substantiva groß und die Adjektiva klein geschrieben werden (z. B. Cell Res., aber cell. Physiol.).

Die pflanzliche Zellwand

Von A. FREY-WYSSLING, Professor für Allgemeine Botanik und Pflanzenphysiologie der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich. Mit 188 Textabbildungen in 320 Einzeldarstellungen. VIII, 367 Seiten Gr.-8°. 1959. Ganzleinen DM 69.60

INHALTSÜBERSICHT

Einleitung: Bedeutung der Zellwand als pflanzlicher Rohstoff. — **Biostruktur und Biogenese der Zellwand.** Entwicklungsgeschichte. Formwechsel. — **Biochemie der Zellwand.** Gerüstsubstanzen. Grundsubstanzen. Inkrusten. Adkrusten und andere lipophile Zellwandstoffe. Zellwandanalyse. — **Biophysik der Zellwand.** Röntgenuntersuchung. Optik. Dichte. Quellung und Schwindung. Festigkeit. — **Rückblick:** Funktion der pflanzlichen Zellwand. — Literatur. — Namenverzeichnis. — Verzeichnis der Symbole. — Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Handbuch der Pflanzenphysiologie
Encyclopedia of Plant Physiology

Herausgegeben von W. Ruhland, Unterdeufstetten

In Gemeinschaft mit

E. Ashby, Belfast; J. Bonner, Pasadena; M. Geiger-Huber, Basel; W.O. James, Oxford; A. Lang, Los Angeles; D. Müller, Kopenhagen; M.G. Stålfelt, Stockholm.

In 18 Bänden. Jeder Band ist einzeln käuflich.

Im Sommer wird erscheinen in Teil II/Part II:

Stoff- und Energiewechsel — Metabolism

11. Band

Die Heterotrophie
Heterotrophy
and heterotrophic plants

Bearbeitet von D.M. Bonner, L. Geitler, O. Härtel, H.L. Jensen, H. Kern, J.G. Kisser, V.G. Lilly, G. Linnemann, E. Melin, N. Nielsen, H.J. Phaff, E.G. Pringsheim, A. Quispel, B. Rademacher, F. Scheffer, Th. Schmucker, W. Schwartz, H.E. Street, L. Tóth, B. Ulrich, H.J. Vogel.

Redigiert von K. Mothes.

Mit etwa 325 Abbildungen. Etwa 1000 Seiten Gr.-8°. 1959.

Vorbestellpreis gültig bis zum Erscheinen Ganzleinen DM 198.40

Endgültiger Ladenpreis nach Erscheinen Ganzleinen DM 248.—

Bei Verpflichtung zur Abnahme des Gesamtwerkes gilt der Vorbestellpreis auch nach Erscheinen des Bandes weiter als Subskriptionspreis, jedoch ist jeder Band bzw. Bandteil zum Ladenpreis einzeln käuflich.

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany